

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①⑪ N° de publication :

2 777 423

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②① N° d'enregistrement national :

98 05043

⑤① Int Cl⁶ : A 01 N 59/26, A 01 N 57/00 // (A 01 N 59/26, 31:06)
(A 01 N 57/00, 31:06)

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 16.04.98.

③③ Priorité :

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 22.10.99 Bulletin 99/42.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦① Demandeur(s) : RHONE POULENC AGRO Société
anonyme — FR.

⑦② Inventeur(s) : SAINDRENAN PATRICK, FRITIG
BERNARD, KOPP MARGUERITTE et LATORSE
MARIE PASCALE.

⑦③ Titulaire(s) :

⑦④ Mandataire(s) :

⑤④ NOUVELLE UTILISATION DE COMPOSES ANTIFONGIQUES ET/OU ANTIBACTERIENS ET/OU ANTIVIRAUX.

⑤⑦ La présente invention concerne particulièrement l'uti-
lisation nouvelle d'un dérivé de l'acide phosphoreux comme
amplificateur (potentialisateur) des réponses de défenses
des plantes.

FR 2 777 423 - A1



**Nouvelle utilisation de composés antifongiques et/ou antibactériens
et/ou antiviraux.**

La présente invention concerne l'utilisation nouvelle d'un ou plusieurs
5 dérivé B comme amplificateur (potentialisateur) des réponses physiologiques des
plantes, par exemple des réponses de défenses des plantes aux agents pathogènes.
L'application d'un ou plusieurs éliciteur A permet d'induire chez la plante un
certain niveau de défense. Il a été trouvé que l'emploi de certains composés B, par
10 exemple des antifongiques et/ou antibactériens et/ou antiviraux, permet
d'amplifier ces réponses obtenues par le seul emploi d'éliciteurs A.

Les mécanismes de défense naturelle induite chez les plantes, dont le
modèle type est la réaction d'hypersensibilité (HR), sont constitués d'une cascade
complexe d'événements impliquant la perception par la plante du microbe ou d'un
15 composé microbien ("éliciteur"), la mort des cellules atteintes et la production de
signaux et messagers chimiques divers. Ces signaux et messagers chimiques vont
induire des changements métaboliques associés à la défense active : activation de
la phénylalanine ammoniac-lyase (PAL), enzyme clé de la voie des
phénylpropanoïdes conduisant à la biosynthèse de composés aromatiques à
20 activité antibiotiques (phytoalexines), des molécules de signalisation comme
l'acide salicylique (AS) ou encore des molécules structurales (lignine); activation
de la voie octadécanoïque et en particulier de la lipoxycgénase (LOX) capable de
générer des hydroperoxydes et des radicaux libres impliqués dans la mort
cellulaire, ou des molécules de signalisation comme l'acide jasmonique.

Par effet de potentialisation, on entend une activité de sensibilisation de
25 la plante ou de cellules à répondre de manière fortement amplifiée à une
sollicitation ultérieure, par exemple un traitement par un éliciteur. Un
potentialisateur sera donc un composé (une molécule) et/ou un mélange de
composé qui sensibilise la plante à répondre de manière amplifiée lors de
l'application d'une (ou plusieurs) autre molécule élicitrice. Il a été trouvé que ce
30 potentialisateur peut lui même être doué de propriétés élicitrices.

Le composé éliciteur A est choisi dans la liste de composés comprenant
des protéines, des oligosaccharides (comme par exemple le tréhalose), des
polysaccharides (comme par exemple le produit Elexa™, marque déposée par
Agricultural Glycosystems Inc. ou Chitosan™), des lipides, des glycolipides, des
35 glycoprotéines, des peptides d'origine diverses, des extraits de parois issus de

matériel végétal et/ou de champignons, des champignons, le Bion™ (marque déposée par Novartis pour le composé BTH ou CGA 245704) et/ou l'un de ses analogues (notamment ceux connus par le brevet européen EP 313512 et la demande de brevet européen EP 0690061), des extraits de levure, de l'acide salicylique et/ou l'un ou plusieurs de ses esters.

Le composé potentialisateur B est choisi dans la liste de composés comprenant les dérivés de l'acide phosphoreux comme les phosphites métalliques tel que le fosétyl-Al, le fosétyl-Na, et l'acide phosphoreux lui-même et ses sels alcalins ou alcalino-terreux, le Bion™ (BTH ou CGA 245704) et/ou l'un de ses analogues, le produit Elexa™, l'INA (acide isonicotinique), le BABA (acide aminobutyrique), le jasmonate de méthyle (MeJa).

Le fosétyl Al et l'acide phosphoreux ont été prioritairement choisis comme potentialisateurs dans l'expérimentation biologique mais pour des raisons de toxicité du fosétyl Al sur culture cellulaire de tabac nous lui avons substitué le fosétyl de sodium dans les tests cellulaires.

L'utilisation de système modèle simplifié tels les cultures cellulaires traitées par des éliciteurs de natures variées permet de mimer parfaitement la HR tout en se débarrassant de la composante spatiale inhérente à la plante entière, et d'avoir accès aux événements précoces de signalisation intracellulaire. Nous abordons dans cette invention la problématique de la potentialisation des réponses de défense par des substances chimiques.

Les éliciteurs ont été choisis appartenant à différentes catégories protéiques et saccharidiques mais ne sont pas les mêmes pour les tests cellulaires et biologiques sur plantes.

Le bion™ (BTH) est le produit de référence éliciteur choisi et la raison pour laquelle le couple oidium/blé a été retenu dans les manipulations biologiques préliminaires réalisées.

Afin de décortiquer les phénomènes induits par l'application du potentialisateur d'une part et de l'éliciteur d'autre part, l'ensemble des essais préliminaires concernent des traitements séquentiels (séparés dans le temps) entre potentialisateur et éliciteurs. Cela n'exclut pas que les deux types de produits soient mis en mélanges ou que ceux-ci soient utilisés simultanément (bien que non en mélanges).

Les différents éliciteurs (fragments pariétaux de *Phytophthora megasperma* H20, oligomères de pectine, une élicitine produite par *P. megasperma*, la β -mégaspermine) sont préparés dans l'eau. Le pH des solutions est ajusté si nécessaire autour de 5,5.

L'acide phosphoreux, le fosétyl-Na, le fosétyl-Al, l'ester d'acide salicylique et le produit Elexa™ (E) sont préparés dans l'eau. Le BTH est préparé dans le DMSO pour les tests sur cellulés de tabac et est utilisé sous la forme commerciale Bion™ (ou Bendicar™) pour les tests sur plantes.

Enfin, des éliciteurs peuvent avoir un effet également potentialisateur par rapport à d'autres éliciteurs comme c'est le cas du BTH ou d'Elexa™.

5 La présente invention concerne particulièrement l'utilisation nouvelle de l'acide phosphoreux et/ou de l'un de ses dérivés comme amplificateur (potentialisateur) des réponses de défenses des plantes.

10 La présente invention concerne en particulier l'effet potentialisateur de l'acide phosphoreux (H₃PO₃) et du fosétyl-Na, mais aussi du Bion™, sur les réponses de défense du tabac (induction des activités PAL, LOX, production d'AS) après application d'éliciteurs de natures diverses tels i) des oligosaccharides de types β -glucane isolés de parois de *Phytophthora megasperma* (Pmg), ii) des oligomères de pectine, iii) la β -mégaspermine, protéine sécrétée par *P. megasperma* H20.

15 La présente invention concerne en particulier l'effet potentialisateur de l'acide phosphoreux (H₃PO₃) et du fosétyl-Al, mais aussi de l'Elexa™, sur les réponses obtenues, dans le cadre des essais biologiques, par l'application d'éliciteurs de nature diverse (Elexa™, Bion™, acide salicylique et/ou ester, extrait de levure, tréhalose, spores tuées ou non d'un champignon non hôte (spores d'oïdium de l'orge)).

20 Il est bien entendu, et également inclus dans le cadre de la présente invention, que l'utilisation décrite ci-dessus peut être éventuellement complétée par un traitement fongicide classique à l'aide d'un fongicide connu, ce traitement pouvant avoir lieu simultanément ou séparément des applications de A et/ou B.

25 La présente invention a aussi pour objet une composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale synergique comprenant un éliciteur et un dérivé de l'acide phosphoreux et un procédé mettant en oeuvre ladite composition et destiné à protéger, à titre curatif ou préventif, les cultures contre les attaques fongiques.

30 Il est toujours désirable d'améliorer le spectre d'activité et l'efficacité de tels composés à action antifongique, ou de les renforcer en les associant à d'autres molécules afin d'obtenir un produit plus performant ou encore de prévenir l'apparition de souches fongiques résistantes à ces nouveaux antifongiques.

35 Il est également très souhaitable de disposer de produits antifongiques bénéficiant d'une persistance d'action améliorée, de nature à espacer dans le temps le nombre de traitements phytosanitaires nécessaires au bon contrôle des parasites.

Il est dans tous les cas particulièrement avantageux de pouvoir diminuer la quantité de produits chimiques épandus dans l'environnement, tout en assurant une protection performante des cultures contre les attaques fongiques.

Il a maintenant été trouvé qu'un (ou plusieurs) des objectifs précédents pouvait être atteint grâce à la présente invention.

La présente invention a aussi pour objet une composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale synergique comprenant comme composé A un ou plusieurs éliciteur d'origine et de nature diverse, et au moins un composé antifongique B choisi dans le groupe comprenant les dérivés de l'acide phosphoreux comme les phosphites métalliques tel que le fosétyl-Al, le fosétyl-Na, l'acide phosphoreux lui-même et/ou ses sels alcalins ou alcalino-terreux, un ou plusieurs composés éliciteur doué également de propriété potentialisatrice.

Il est bien entendu que ladite composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale peut renfermer un seul composé B ou plus d'un tel composé, par exemple 1, 2 ou 3 composés B selon l'utilisation à laquelle elle est destinée.

Parmi les significations plus spécialement préférées du composé B définies ci-dessus, on préfère encore le fosétyl Al.

De manière parfaitement inattendue, la composition selon l'invention améliore alors de façon notable l'action des matières actives prises séparément pour un nombre de champignons particulièrement nuisibles pour les cultures monocotylédones, comme en particulier le blé, le riz, l'orge, et dicotylédones, comme en particulier la vigne ou les solanées. Cette amélioration se traduit notamment par une diminution des doses de chacun des constituants, ce qui est particulièrement avantageux pour l'utilisateur et l'environnement.

Le mélange (appliqué simultanément ou séparément) antifongique et/ou antibactérien et/ou antiviral présente ainsi des propriétés synergiques attestées par l'application de la méthode définie par Limpel, L.E., P.H. Schuldt et D.Lammont, 1962, Proc. NEWCC 16:48-53, en utilisant la formule suivante, encore appelée formule de Colby :

$$E = X + Y - X.Y/100$$

dans laquelle:

- E est le pourcentage attendu d'inhibition de la croissance du champignon par un mélange des deux antifongiques A et B à des doses définies, respectivement égales à a et b ;

- X est le pourcentage d'inhibition observé par le composé antifongique et/ou antibactérien et/ou antiviral A à la dose a,

- Y est le pourcentage d'inhibition observé par le composé antifongique et/ou antibactérien et/ou antiviral B à la dose b.

Quand le pourcentage d'inhibition observé du mélange est supérieur à E, il y a synergie.

Les structures correspondant aux noms communs des matières actives B sont indiquées dans l'un au moins des 2 ouvrages suivants :

- "The pesticide manual" édité par Clive TOMLIN et publié par le British Crop Protection Council, 11ème édition (page 629);

- l'Index phytosanitaire 1998, édité par l'Association de Coordination Technique Agricole, 34ème édition.

La composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale selon l'invention comprend, comme matière active, un composé A et au moins un composé B en mélange avec les supports solides ou liquides, acceptables en agriculture et/ou les agents tensio-actifs également acceptables en agriculture. En particulier sont utilisables les supports inertes et usuels et les agents tensio-actifs usuels. Ces compositions recouvrent non seulement les compositions prêtes à être appliquées sur la culture à traiter au moyen d'un dispositif adapté, tel qu'un dispositif de pulvérisation, mais également les compositions concentrées commerciales qui doivent être diluées avant application sur la culture. On désigne par matière active la combinaison d'au moins un composé A avec au moins un composé B.

Ces compositions peuvent contenir aussi toute sorte d'autres ingrédients tels que, par exemple, d'autres fongicides connus, des colloïdes protecteurs, des adhésifs, des épaississants, des agents thixotropes, des agents de pénétration, des stabilisants, des séquestrants, etc... Plus généralement les composés A et B peuvent être combinés à tous les additifs solides ou liquides correspondant aux techniques habituelles de la mise en formulation.

D'une façon générale, les compositions selon l'invention contiennent habituellement de 0,05 à 95 % (en poids) de matière active, un ou plusieurs

supports solides ou liquides et, éventuellement, un ou plusieurs agents tensioactifs.

Par le terme "support", dans le présent exposé, on désigne une matière organique ou minérale, naturelle ou synthétique, avec laquelle la matière active est combinée pour faciliter son application sur les parties aériennes de la plante. Ce support est donc généralement inerte et il doit être acceptable en agriculture, notamment sur la plante traitée. Le support peut être solide (argiles, silicates naturels ou synthétiques, silice, résines, cires, engrais solides, etc...) ou liquide (eau, alcools, notamment le butanol etc...).

L'agent tensioactif peut être un agent émulsionnant, dispersant ou mouillant de type ionique ou non ionique ou un mélange de tels agents tensioactifs. On peut citer par exemple des sels d'acides polyacryliques, des sels d'acides lignosulfoniques, des sels d'acides phénolsulfoniques ou naphthalènesulfoniques, des polycondensats d'oxyde d'éthylène sur des alcools gras ou sur des acides gras ou sur des amines grasses, des phénols substitués (notamment des alkylphénols ou des arylphénols), des sels d'esters d'acides sulfosucciniques, des dérivés de la taurine (notamment des alkyltaurates), des esters phosphoriques d'alcools ou de phénols polyoxyéthylés, des esters d'acides gras et de polyols, les dérivés à fonction sulfates, sulfonates et phosphates des composés précédents. La présence d'au moins un agent tensioactif est généralement indispensable lorsque la matière active et/ou le support inerte ne sont pas solubles dans l'eau et que l'agent vecteur de l'application est l'eau.

Ainsi donc, les compositions à usage agricole selon l'invention peuvent contenir la matière active dans de très larges limites, allant de 0,05 % à 95 % (en poids). Leur teneur en agent tensio-actif est avantageusement comprise entre 5 % et 40 % en poids. Sauf indication contraire les pourcentages donnés dans cette description, incluant les revendications, sont en poids.

Ces compositions selon l'invention sont elles-mêmes sous des formes assez diverses, solides ou liquides.

Comme formes de compositions solides, on peut citer les poudres pour poudrage (à teneur en matière active pouvant aller jusqu'à 100 %) et les granulés, notamment ceux obtenus par extrusion, par compactage, par imprégnation d'un support granulé, par granulation à partir d'une poudre (la teneur en matière active dans ces granulés étant entre 0,5 et 80 % pour ces derniers cas), les comprimés ou tablettes effervescentes.

BEST AVAILABLE COPY

La composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale selon l'invention peut encore être utilisée sous forme de poudres pour poudrage ; on peut aussi utiliser une composition comprenant 50 g de matière active et 950 g de talc ; on peut aussi utiliser une composition comprenant 20 g de matière active, 10 g de silice finement divisée et 970 g de talc ; on mélange et broie ces constituants et on applique le mélange par poudrage.

Comme formes de compositions liquides ou destinées à constituer des compositions liquides lors de l'application, on peut citer les solutions, en particulier les concentrés solubles dans l'eau, les émulsions, les suspensions concentrées, les aérosols, les poudres mouillables (ou poudre à pulvériser), les pâtes, les gels.

Les suspensions concentrées, applicables en pulvérisation, sont préparées de manière à obtenir un produit fluide stable ne se déposant pas et elles contiennent habituellement de 10 à 75 % de matière active, de 0,5 à 15 % d'agents tensioactifs, de 0,1 à 10 % d'agents thixotropes, de 0 à 10 % d'additifs appropriés, comme des anti-mousses, des inhibiteurs de corrosion, des stabilisants, des agents de pénétration et des adhésifs et, comme support, de l'eau ou un liquide organique dans lequel la matière active est peu ou pas soluble : certaines matières solides organiques ou des sels minéraux peuvent être dissous dans le support pour aider à empêcher la sédimentation ou comme antigels pour l'eau.

A titre d'exemple, voici une composition de suspension concentrée :

Exemple SC 1 :

- matière active	500 g
- phosphate de tristyrylphénol polyéthoxylé	50 g
- alkylphénol polyéthoxylé	50 g
- polycarboxylate de sodium	20 g
- éthylène glycol	50 g
- huile organopolysiloxanique (antimousse)	1 g
- polysaccharide	1,5 g
- eau	316,5 g

Les poudres mouillables (ou poudre à pulvériser) sont habituellement préparées de manière qu'elles contiennent 20 à 95 % de matière active, et elles

contiennent habituellement, en plus du support solide, de 0 à 30 % d'un agent mouillant, de 3 à 20 % d'un agent dispersant, et, quand c'est nécessaire, de 0,1 à 10 % d'un ou plusieurs stabilisants et/ou autres additifs, comme des agents de pénétration, des adhésifs, ou des agents antimottants, colorants, etc...

5 Pour obtenir les poudres à pulvériser ou poudres mouillables, on mélange intimement les matières actives dans les mélangeurs appropriés avec les substances additionnelles et on broie avec des moulins ou autres broyeurs appropriés. On obtient par là des poudres à pulvériser dont la mouillabilité et la mise en suspension sont avantageuses ; on peut les mettre en suspension avec de l'eau à toute concentration désirée et ces suspensions sont utilisables très
10 avantageusement en particulier pour l'application sur les feuilles des végétaux.

A la place des poudres mouillables, on peut réaliser des pâtes. Les conditions et modalités de réalisation et d'utilisation de ces pâtes sont semblables à celles des poudres mouillables ou poudres à pulvériser.

15 A titre d'exemple, voici diverses compositions de poudres mouillables (ou poudres à pulvériser) :

Exemple PM 1

	- matière active	50%
20	- alcool gras éthoxylé (agent mouillant)	2,5%
	- phényléthylphénol éthoxylé (agent dispersant)	5%
	- craie (support inerte)	42,5%

Exemple PM 2 :

25	- matière active	10%
	- alcool synthétique oxo de type ramifié, en C13 éthoxylé par 8 à 10 oxyde d'éthylène (agent mouillant)	0,75%
30	- lignosulfonate de calcium neutre (agent dispersant)	12%
	- carbonate de calcium (charge inerte)	q.s.p. 100 %

Exemple PM 3 :

35 Cette poudre mouillable contient les mêmes ingrédients que dans l'exemple précédent, dans les proportions ci-après :

- matière active	75%
- agent mouillant	1,50%
- agent dispersant	8%
- carbonate de calcium (charge inerte)	q.s.p. 100%

5

Exemple PM 4 :

- matière active	90%
- alcool gras éthoxylé (agent mouillant)	4%
- phényléthylphénol éthoxylé (agent dispersant)	6%

10

Exemple PM 5 :

- matière active	50%
- mélange de tensio-actifs anioniques et non ioniques (agent mouillant)	2,5%
- lignosulfonate de sodium (agent dispersant)	5%
- argile kaolinique (support inerte)	42,5%

15

Les dispersions et émulsions aqueuses, par exemple les compositions obtenues en diluant à l'aide d'eau une poudre mouillable ou un concentré émulsionnable selon l'invention, sont comprises dans le cadre général de la présente invention. Les émulsions peuvent être du type eau-dans-l'huile ou huile-dans-l'eau et elles peuvent avoir une consistance épaisse comme celle d'une "mayonnaise".

20

Les compositions antifongiques selon l'invention peuvent être formulées sous la forme de granulés dispersibles dans l'eau également compris dans le cadre de l'invention.

25

Ces granulés dispersibles, de densité apparente généralement comprise entre environ 0,3 et 0,6 ont une dimension de particules généralement comprise entre environ 150 et 2000 et de préférence entre 300 et 1500 microns.

30

La teneur en matière active de ces granulés est généralement comprise entre environ 1 % et 90 %, et de préférence entre 25 % et 90 %.

35

Le reste du granulé est essentiellement composé d'une charge solide et éventuellement d'adjuvants tensio-actifs conférant au granulé des propriétés de dispersibilité dans l'eau. Ces granulés peuvent être essentiellement de deux types distincts selon que la charge retenue est soluble ou non dans l'eau. Lorsque la

charge est hydrosoluble, elle peut être minérale ou, de préférence, organique. On a obtenu d'excellents résultats avec l'urée. Dans le cas d'une charge insoluble, celle-ci est de préférence minérale, comme par exemple le kaolin ou la bentonite. Elle est alors avantageusement accompagnée d'agents tensio-actifs (à raison de 2 à 20 % en poids du granulé) dont plus de la moitié est, par exemple, constituée par au moins un agent dispersant, essentiellement anionique, tel qu'un polynaphtalène sulfonate alcalin ou alcalino terreux ou un lignosulfonate alcalin ou alcalino-terreux, le reste étant constitué par des mouillants non ioniques ou anioniques tel qu'un alcoyl naphtalène sulfonate alcalin ou alcalino-terreux.

Par ailleurs, bien que cela ne soit pas indispensable, on peut ajouter d'autres adjuvants tels que des agents anti-mousse.

Le granulé selon l'invention peut être préparé par mélange des ingrédients nécessaires puis granulation selon plusieurs techniques en soi connues (drageoir, lit fluide, atomiseur, extrusion, etc...). On termine généralement par un concassage suivi d'un tamisage à la dimension de particule choisie dans les limites mentionnées ci-dessus. On peut encore utiliser des granulés obtenus comme précédemment puis imprégnés avec une composition contenant la matière active.

De préférence, il est obtenu par extrusion, en opérant comme indiqué dans les exemples ci-après.

Exemple GD1 : Granulés dispersibles

Dans un mélangeur, on mélange 90 % en poids de matière active et 10 % d'urée en perles. Le mélange est ensuite broyé dans un broyeur à broches. On obtient une poudre que l'on humidifie avec environ 8 % en poids d'eau. La poudre humide est extrudée dans une extrudeuse à rouleau perforé. On obtient un granulé qui est séché, puis concassé et tamisé, de façon à ne garder respectivement que les granulés d'une dimension comprise entre 150 et 2000 microns.

Exemple GD2 : Granulés dispersibles

Dans un mélangeur, on mélange les constituants suivants :

- matière active	75%
- agent mouillant (alkylnaphtalène sulfonate de sodium)	2%
- agent dispersant (polynaphtalène sulfonate de sodium)	8%
- charge inerte insoluble dans l'eau (kaolin)	15%

Ce mélange est granulé en lit fluide, en présence d'eau, puis séché, concassé et tamisé de manière à obtenir des granulés de dimension comprise entre 0,15 et 0,80 mm.

5 Ces granulés peuvent être utilisés seuls, en solution ou dispersion dans de l'eau de manière à obtenir la dose cherchée. Ils peuvent aussi être utilisés pour préparer des associations avec d'autres matières actives, notamment antifongiques, ces dernières étant sous la forme de poudres mouillables, ou de granulés ou suspensions aqueuses.

10 En ce qui concerne les compositions adaptées au stockage et au transport, elles contiennent plus avantageusement de 0,5 à 95 % (en poids) de matière active.

15 L'invention a pour autre objet un procédé de lutte à titre curatif ou préventif, de préférence préventif, contre les champignons phytopathogènes des cultures et/ou bactéries et/ou virus caractérisé en ce que l'on applique sur les parties aériennes des végétaux une quantité efficace et non phytotoxique d'une combinaison d'un ou plusieurs composé A et d'au moins un composé B, par exemple dans une composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale selon l'invention. Le procédé global peut en outre éventuellement prévoir un traitement supplémentaire à l'aide d'un fongicide connu, ce fongicide étant appliqué simultanément ou séparément des composés A et/ou B.

20 Les champignons phytopathogènes des cultures qui peuvent être combattus par ce procédé sont notamment ceux :

- du groupe des oomycètes :

25 - du genre *Phytophthora* tel que *Phytophthora phaseoli*, *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora capsici*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora palmivora*, *Phytophthora cinnamoni*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora parasitica*, *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora cryptogea*, *Phytophthora porri*, *Phytophthora nicotianae*, *Phytophthora infestans* (mildiou des solanées, notamment de la pomme de terre ou de la tomate);

30 - de la famille des Péronosporacées, notamment *Plasmopara viticola* (mildiou de la vigne), *Plasmopara halstedei* (mildiou du tournesol), *Pseudoperonospora* sp (notamment mildiou des cucurbitacées (*Pseudoperonospora cubensis*) et du houblon (*Pseudoperonospora humuli*)), *Bremia lactucae* (mildiou de la laitue), *Peronospora tabacinae* (mildiou du tabac),

Peronospora destructor (mildiou de l'oignon), *Peronospora parasitica* (mildiou du chou), *Peronospora farinosa* (mildiou des endives et mildiou de la betterave).

- du groupe des adélomycètes (ascomycètes):

5 - du genre *Alternaria*, par exemple *Alternaria solani* (alternariose des solanées, et notamment de la tomate et des pommes de terre),

- du genre *Guignardia*, notamment *Guignardia bidwellii* (black rot de la vigne),

- du genre *Venturia*, par exemple *Venturia inaequalis*, *Venturia pirina* (tavelures du pommier ou du poirier),

10 - du genre *Oïdium*, par exemple oïdium de la vigne (*Uncinula necator*) ; oïdium des cultures légumières, par exemple *Erysiphe polygoni* (oïdium des crucifères) ; *Leveillula taurica*, *Erysiphe cichoracearum*, *Sphaerotheca fuliginea* (oïdium des cucurbitacées, des composées, de la tomate) ; *Erysiphe communis* (oïdium de la betterave et du chou) ; *Erysiphe pisi* (oïdium du pois, de la luzerne) ; *Erysiphe polyphaga* (oïdium du haricot et du concombre) ; *Erysiphe umbelliferarum* (oïdium des ombellifères, notamment de la carotte) ; *Sphaerotheca humuli* (oïdium du houblon) ; oïdiums du blé et de l'orge (*Erysiphe graminis forma specie tritici* et *Erysiphe graminis forma specie hordei*),

15 - du genre *Taphrina*, par exemple *Taphrina deformans* (cloque du pêcher),

20 - du genre *Septoria*, par exemple *Septoria nodorum* ou *Septoria tritici* (septoriose des céréales),

- du genre *Sclerotinia*, par exemple *Sclerotinia sclerotirium*,

25 - du genre *Pseudocercospora*, par exemple *P. herpotrichoides* (piétin verse des céréales),

- du genre *Botrytis cinerea* (vigne, culture légumières et maraichères, pois,.....),

30 - du genre *Phomopsis viticola* (excoriose de la vigne),

- du groupe des Basidiomycètes :

30 - du genre *Puccinia*, par exemple *Puccinia recondita* ou *striiformis* (rouilles du blé), *Puccinia triticina*, *Puccinia hordei*,

- de la famille *Rhizoctonia* spp, par exemple *Rhizoctonia solani*.

35 Les maladies d'origine bactérienne et virale qui peuvent être combattues par ce procédé sont notamment :

- le feu bactérien, *Erwinia amylovora* ;
- la tache bactérienne des arbres fruitiers à noyau, *Xanthomonas campestris* ;
- la bactériose du poirier, *Pseudomonas syringae* ;
- la bactériose du riz et des céréales ;
- les virus présents sur le riz, les cultures légumières et céréalières.

Les cultures envisagées dans le cadre de la présente invention sont de préférence les cultures céréalières (blé, orge, maïs, riz) et légumières (haricot, oignon, cucurbitacées, chou, pomme de terre, tomate, poivron, épinard, pois, laitue, céleri, endives), les cultures fruitières (fraisiers, framboisiers), les cultures arboricoles (pommiers, poiriers, cerisiers, ginseng, citronniers, cocotiers, pécaniers, cacaoyers, noyers, hévéas, oliviers, peupliers, bananiers), la vigne, le tournesol, la betterave, le tabac et les cultures ornementales.

Un classement fait non plus par champignons ou bactéries visés mais par cultures cibles peut être illustré comme ci-dessous :

- la vigne: oïdium (*Uncinula necator*), mildiou (*Plasmopara viticola*), pourriture (*Botrytis cinerea*), excoriose (*Phomopsis viticola*) et black-rot (*Guignardia bidwellii*),
- les solanées: mildiou (*Phytophthora infestans*), alternariose (*Alternaria solani*) et pourriture (*Botrytis cinerea*),
- les cultures légumières: mildious (*Peronospora* sp., *Bremia lactucae*, *Pseudoperonospora* sp), alternariose (*Alternaria* sp.), sclérotiniose (*Sclerotinia* sp.), pourriture (*Botrytis cinerea*), pourriture du pied ou des racines (*Rhizoctonia* spp.), oïdium (*Erysiphe* sp.; *Sphaerotheca fuliginea*),
- l'arboriculture: tavelure (*Venturia inaequalis*, *V. pirina*), maladies bactériennes (*erwinia amylovora*, *xanthomonas campestris*, *pseudomonas syringae*), oïdium (*Podosphaera leucotricha*) et moniliose (*Monilia fructigena*),
- les agrumes: tavelure (*Elsinoe fawcetti*), mélanose (*Phomopsis citri*) et maladies à *Phytophthora* sp.,
- le blé, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des semences : les fusarioses (*Microdochium nivale* et *Fusarium roseum*), les caries (*Tilletia caries*, *Tilletia controversa* ou *Tilletia indica*), la septoriose (*Septoria nodorum*),

- le blé, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des parties aériennes de la plante : le piétin-verse (*Pseudocercospora herpotrichoides*), le piétin-échaudage (*Gaeumannomyces graminis*), la fusariose du pied (*F. culmorum*, *F. graminearum*), le rhizoctone (*Rhizoctonia cerealis*), l'oïdium (*Erysiphe graminis forma specie tritici*), les rouilles (*Puccinia striiformis* et *Puccinia recondita*) et les septorioses (*Septoria tritici* et *Septoria nodorum*),
- le blé et l'orge, en ce qui concerne la lutte contre les maladies bactériennes et virales, par exemple la jaunisse nanisante de l'orge,
- l'orge, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des semences : les helminthosporioses (*Pyrenophora graminea*, *Bipolaris*, *Pyrenophora teres* et *Cochliobolus sativus*), le charbon nu (*Ustilago nuda*) et les fusarioses (*Microdochium nivale* et *Fusarium roseum*),
- l'orge, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des parties aériennes de la plante : le piétin-verse (*Pseudocercospora herpotrichoides*), les helminthosporioses (*Pyrenophora teres* et *Cochliobolus sativus*), l'oïdium (*Erysiphe graminis forma specie hordei*), la rouille naine (*Puccinia hordei*) et la rhynchosporiose (*Rhynchosporium secalis*);
- la pomme de terre, en ce qui concerne la lutte contre les maladies du tubercule (notamment *Helminthosporium solani*, *Phoma tuberosa*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*) et certaines viroses (virus Y);
- le coton, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des jeunes plantes issues des semences : les fontes de semis et les nécroses du collet (*Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*), la pourriture noire des racines (*Thielaviopsis basicola*),
- le pois, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des semences : l'anthracnose (*Ascochyta pisi*, *Mycosphaerella pinodes*), la fusariose (*Fusarium oxysporum*), la pourriture grise (*Botrytis cinerea*), la rouille (*Uromyces pisi*),
- le colza, en ce qui concerne la lutte contre les maladies suivantes des semences : *Phoma lingam* et *Alternaria brassicae*, la pourriture (*Botrytis cinerea*), et sclérotiniose (*Sclerotinia sclerotirium*),
- le maïs, en ce qui concerne la lutte contre les maladies des semences (*Rhizopus* sp., *Penicillium* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp. et *Gibberella fujikuroi*), les helminthosporioses (*Bipolaris*), la fusariose (*Fusarium oxysporum*),
- le riz: pourriture du pied ou des racines (*Rhizoctonia* spp.),

- le lin, en ce qui concerne la lutte contre la maladie des semences (*Alternaria linicola*),

- la banane: cercosporiose (*Mycosphaerella figiensis*),

5 - le gazon: rouille, oïdium, helminthosporiose, maladies telluriques (*Microdochium nivale*, *Pythium* sp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia homeocarpa*...),

- les arbres forestiers, en ce qui concerne la lutte contre les fontes de semis (*Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*).

10 La composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale de l'invention est appliquée au moyen de différents procédés de traitement tels que :

- la pulvérisation sur les parties aériennes des cultures à traiter d'un liquide comprenant ladite composition,

15 - le poudrage, l'incorporation au sol de granulés ou de poudres, l'arrosage, l'injection dans les arbres ou le badigeonnage.

La pulvérisation d'un liquide sur les parties aériennes des cultures à traiter est le procédé de traitement préféré.

20 Par "quantité efficace et non phytotoxique", on entend une quantité de composition selon l'invention suffisante pour permettre le contrôle ou la destruction des champignons ou bactéries présents ou susceptibles d'apparaître sur les cultures, et n'entraînant pour lesdites cultures aucun symptôme notable de phytotoxicité. Une telle quantité est susceptible de varier dans de larges limites selon le champignon ou la bactérie à combattre, le type de culture, les conditions climatiques, et les composés compris dans la composition antifongique et/ou
25 antibactérienne et/ou antivirale selon l'invention. Cette quantité peut être déterminée par des essais systématiques au champ, à la portée de l'homme du métier.

30 En dernier lieu, l'invention concerne un produit comprenant au moins un composé A et au moins un composé B pour le contrôle des champignons phytopathogènes et/ou des bactéries et/ou des virus d'un milieu par application simultanée, séquentielle ou séparée.

35 Les exemples suivants sont donnés à titre purement illustratif de l'invention, qu'ils ne limitent en aucune façon.

Des expérimentations ont été entreprises sur les effets physiologiques induits dans les réponses de défenses dans les cultures cellulaires de tabac par mesure de la production d'enzymes comme la PAL et la LOX et d'acide salicylique et sur les effets de protection antifongique dans le cas des couples oïdium du blé et mildiou de la vigne.

Exemple 1 : **Effets physiologiques.**

1) Le choix des marqueurs biochimiques sur cellules de tabac.

♦ mesure de l'activité PAL (phénylalanine ammoniac-lyase) : enzyme clé de la voie des phényl propanoïdes et plus particulièrement de la lignification impliquée dans les réactions de défense des plantes (chez les monocotylédones tout particulièrement).

♦ mesure de l'acide salicylique : molécule de signalisation.

♦ mesure de l'activité LOX (lipoxygénase) enzyme clé de la synthèse de l'acide jasmonique, autre molécule de signalisation.

2) Matériel Végétal.

Les suspensions cellulaires utilisées sont des suspensions de *Nicotiana tabacum* BY (Brigh Yellow) provenant de Washington State University (Pullman, USA). Elles sont cultivées à l'obscurité, 24°C sous agitation (120 rpm) et repiquées tous les 7 jours par transfert de 10 ml de culture dans 70 ml de milieu frais.

La composition du milieu de culture est donnée pour 1 litre:

- Murashige et Skoog salts (Duchefa) 4,3g
- sucrose 30g
- B1(thiamine) 1mg
- inositol 100mg
- KH_2PO_4 1,47 mM

Le pH est ajusté à 5,8.

Les cellules sont prétraitées 5 jours après repiquage (fin de la phase exponentielle de croissance) et élicitées au 6ème jour. Deux heures avant prétraitement, 10 ml de cellules sont transférés dans des erlenmeyers de 25ml. Pour les analyses des activités phénylalanine ammoniac-lyase (PAL), lipoxygénase (LOX) et la détermination de l'acide salicylique (SA), les cellules sont récoltées au temps voulu par filtration sur papier Wathman 3M, congelées dans l'azote liquide et conservées à -80°C jusqu'à l'analyse.

3) Activité Phénylalanine ammoniac-lyase (PAL).

Les cellules (0,5g) sont broyées dans du tampon borate 0,1M pH 8,8 en présence de charbon actif et de quartz. Le rapport de broyage est de 1/5 (p/v). Après centrifugation, 100 μ l d'extrait cellulaire sont mis à incuber 1h à 37°C en présence de 200 μ l de tampon borate 0,1M pH 8,8 et de 100 μ l d'un mélange tampon borate 0,1M pH 8,8, L-phénylalanine 300 μ M (mélange marquée et froide), la solution finale présente une activité spécifique de 810.000cpm/ml.

La réaction est arrêtée par l'ajout de quelques gouttes de H₂SO₄ 9N. On rajoute 2ml d'H₂O. Les produits de la réaction sont extraits en ajoutant 2ml d'un mélange éther/cyclohexane (1/1, v/v). La phénylalanine n'étant pas soluble dans ce mélange, le comptage de la réaction est fait sur 1ml en présence de liquide de scintillation 'multi-purpose'.

4) Activité Lipoxigénase (LOX).

Les cellules (250mg) sont broyées dans 0,5 ml de tampon d'extraction en présence de quartz.

Tp d'extraction :
- Tris 0,1M Ph 6,8
- PVP 1% p/v
- Na₂S₂O₅ 0,04 %
- PMSF 0,5mM
- EDTA 3mM
- Triton 0,1% v/v

Le broyat est centrifugé 15min à 4°C à 13000 rpm. 2,87ml de tampon Tris 0,1M pH 6,8 puis 30 μ l d'acide linoléique 10mM sont ajoutés à l'extrait cellulaire. Après agitation, on suit l'évolution de la DO à 234 nm.

5) Extraction et dosage de l'acide salicylique (AS).

Les échantillons (0,5 g) de cellules ou de feuilles de tabac sont broyés dans de l'azote liquide, puis le broyage est poursuivi en présence 0,8 ml de méthanol 90%. Une quantité connue d'AS marqué au ¹⁴C (1 nCi, 54 mCi/mole, Sigma) est alors ajoutée afin d'estimer le rendement de récupération de l'AS endogène. La quantité d'AS marqué ajoutée est inférieure au seuil de détection de l'analyse. Les extraits méthanoliques sont agités vigoureusement et centrifugés pendant 20 min à 13000 rpm. Le surnageant est récupéré et le culot est soumis à une seconde extraction par du méthanol 100%. Après centrifugation, les deux surnageants sont rassemblés. Les échantillons sont ensuite évaporés à sec au concentrateur sous vide. Les extraits secs sont repris dans 0,5 ml d'eau à 80°C.

Les échantillons sont amenés à pH 2 par l'ajout d'HCl 2 M, puis chauffés à 80°C pendant une heure. Par la suite, les échantillons sont soumis à deux extractions successives par 2 volumes d'éther. Après extraction, les phases étherées sont rassemblées et l'éther est évaporé sous un flux d'azote. Les résidus secs sont dissous dans environ 150 μ l de tampon de charge (acétate de

sodium 20 mM pH 5 ; acétonitrile, dans les proportions 9 : 1 (v/v)). 20 ml auxquels sont ajoutés 3 ml de liquide de scintillation (Ready Gel, Beckmann) sont prélevés pour le comptage de la radioactivité résiduelle qui permet le calcul du rendement de récupération de l'AS. Les teneurs en AS total déterminées correspondent à la somme des teneurs en AS sous forme libre et des teneurs en AS sous forme conjuguée, l'AS étant relargué au cours de l'hydrolyse.

Analyse quantitative par CLHP

50 µl des échantillons repris dans le tampon de charge sont injectés sur une colonne C18 phase inverse (Nova pak waters, 3,9x150 mm) équilibrée dans le mélange tampon acétate de Na (20 mM, pH 5) 97% / acétonitrile 3% sous un débit de 1ml/min. L'élution est programmée sur un système CLHP Waters dans un système isocratique pendant 10 min. La proportion d'acétonitrile augmente ensuite jusqu'à 80% durant 2 min, cette proportion est maintenue pendant 10 min, ce qui permet le lavage de la colonne qui est ensuite rééquilibrée dans le mélange de départ durant 5 minutes, avant une nouvelle injection. L'AS est quantifié par fluorimétrie (λ excitation=315 nm, λ émission=405 nm). Le pic correspondant à cette molécule est identifié par comparaison du temps de rétention avec celui de l'AS de référence (50 ng). Les quantités d'AS injectées sont calculées grâce à la comparaison de l'aire des pics correspondant à l'AS avec celle de la molécule standard injectée. Les teneurs en AS dans les échantillons sont ensuite calculées en tenant compte du rendement de récupération.

6) Cinétique de traitement.

Dans tous les cas, le prétraitement avec le potentialisateur est réalisé 18 heures avant le traitement éliciteur.

Les prélèvements pour analyse des effets physiologiques ont lieu 4 heures, 12 heures ou 24 heures après élicitation. Les témoins correspondant à une potentialisation seule ou une élicitation seule sont systématiquement présents pour chaque prélèvement.

Résultats : on se reportera aux figures 1 à 9 en fin de descriptions, figures pour lesquelles les commentaires suivants sont donnés :

Figure 1. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par un éliciteur oligosaccharidique isolé de Pmg.

Les cultures cellulaires ont été conditionnées (prétraitement) par 5mM de H₃PO₃ pendant 18h et induites par 10µg/ml d'éliciteur oligosaccharidique de type

β -glucane. L'élicitation entraîne par elle-même une augmentation transitoire de l'activité PAL qui retourne à son niveau initial 8h après l'application de l'éliciteur. Un prétraitement des cellules par H₃PO₃ (5mM) amplifie nettement la réponse à l'éliciteur (élicitabilité) et augmente la durabilité du phénomène.

Figure 2. Influence de H₃PO₃ sur l'activité lipoxgénase (LOX) de cultures cellulaires de tabac après induction par un éliciteur oligosaccharidique isolé de Pmg.

L'activité LOX a été mesurée 21h après l'élicitation par 10 μ g/ml d'éliciteur oligosaccharidique de type β -glucane. L'effet du prétraitement des cellules par H₃PO₃, sur l'élicitabilité cellulaire est important puisqu'il permet d'induire une activité LOX environ 4 fois supérieure au témoin correspondant. Un léger effet inducteur de l'activité LOX est observable 39h (18h de prétraitement+21h) après l'application de H₃PO₃ seul.

Figure 3. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par des oligomères de pectine.

Les cultures cellulaires ont été conditionnées par 5mM de H₃PO₃ pendant 18h et élicitées par 20 μ g/ml d'oligomères de pectine. Le traitement des cellules par l'éliciteur entraîne une augmentation transitoire de l'activité PAL qui retourne à son niveau initial 8h après élicitation. Le conditionnement des cellules par H₃PO₃ provoque après élicitation une forte stimulation de l'activité PAL qui se maintient à un niveau élevé pendant toute la durée de l'expérimentation. Aucun effet significatif d'induction de l'activité PAL n'est détectable après l'application de H₃PO₃ seul.

Figure 4. Accumulation d'AS dans des cultures cellulaires de tabac préconditionnées ou non par H₃PO₃ et élicitées par des oligomères de pectine.

L'AS s'accumule très transitoirement et faiblement en réponse à l'élicitation par 20 μ g/ml d'oligomères de pectine. Le conditionnement des cellules

par H₃PO₃, 18h avant l'élicitation, entraîne une importante augmentation du taux de synthèse d'AS par rapport aux cellules non conditionnées.

Figure 5. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ et le fosétyl-Na sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par des oligomères de pectine.

Les cultures cellulaires ont été conditionnées par 5mM de H₃PO₃ ou de fosétyl-Na pendant 18h et élicitées par 20 µg/ml d'oligomères de pectine. Le traitement des cellules par l'éliciteur entraîne une augmentation transitoire de l'activité PAL qui retourne à son niveau initial 1h après élicitation. Le conditionnement des cellules par H₃PO₃ provoque après élicitation une stimulation de l'activité PAL supérieure à celle observée dans les cellules non-conditionnées. Le fosétyl-Na maintient l'activité PAL à un niveau élevé 1h après l'élicitation (effet de durabilité). Aucun effet significatif d'induction de l'activité PAL n'est détectable après l'application de fosétyl-Na seul.

Figure 6. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par 2nM de β-mégaspermine.

Les cultures cellulaires ont été conditionnées par 5mM de H₃PO₃ pendant 18h et élicitées par 2nM de β-mégaspermine. L'application de l'éliciteur seul, entraîne une augmentation de l'activité PAL qui se stabilise 8h après l'élicitation. L'activité PAL des cellules prétraitées par H₃PO₃ augmente linéairement après élicitation pour atteindre 4 fois le niveau des cellules non-conditionnées.

Figure 7. Influence de H₃PO₃ sur l'activité lipoxigénase (LOX) de cultures cellulaires de tabac après induction par 2nM de β-mégaspermine.

L'activité LOX a été mesurée 12h après l'élicitation par 2nM de β-mégaspermine. L'effet du prétraitement des cellules (18h) par H₃PO₃, sur l'élicitabilité cellulaire est très important puisqu'il permet d'induire une activité LOX environ 28 fois supérieure au témoin correspondant. Aucun effet inducteur

de l'activité LOX n'est observable 30h (18h de prétraitement+12h) après l'application de H₃PO₃ seul.

Figure 8. Accumulation d'AS dans des cultures cellulaires de tabac préconditionnées ou non par H₃PO₃ et élicitées par 5nM de β -mégaspermine.

L'AS s'accumule transitoirement en réponse à l'élicitation par 5nM de β -mégaspermine. Le conditionnement des cellules par H₃PO₃, 18h avant l'élicitation, entraîne une importante augmentation du taux de synthèse d'AS par rapport aux cellules non conditionnées et une persistance de l'effet.

Figure 9. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ et le fosétyl-Na sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par 2nM de β -mégaspermine..

Les cultures cellulaires ont été conditionnées pendant 18h par 5mM de H₃PO₃ ou de fosétyl-Na, et élicitées par 2nM de β -mégaspermine. L'élicitation seule entraîne une augmentation de l'activité PAL qui se stabilise 8h après l'application de l'éliciteur. L'activité PAL de cellules prétraitées par H₃PO₃ ou par le fosétyl-Na est toujours supérieure à celle observées dans les cellules non-conditionnées.

Conclusion : Ces expérimentations démontrent l'effet potentialisateur de H₃PO₃ et du fosétyl-Na sur les réponses de défense du tabac. H₃PO₃ et le fosétyl-Na n'ont par eux-mêmes aucun effet sur l'activité de la PAL, de la LOX ou sur la synthèse d'AS. Le conditionnement sensibilise les cultures cellulaires à répondre à des concentrations faibles en éliciteurs ou augmente la sensibilité des cellules aux éliciteurs.

Exemple 2 : Protection antifongique.

1) Oidium /blé (*Erysiphe graminis* f.sp.*tritici*):

Des blés de la variété Victo (commercialisée par la firme Pionner génétique) sont cultivés en chambre froide à 10°C avec une taux d'HR de 90% et soumis à une photopériode de 12H.

Les plants âgés de trois semaines environ (stade 2 feuilles bien développées) sont conditionnés une journée avant traitement dans une serre à 20°C et arrosés.

Les produits sont appliqués soit en séquence soit en mélange.

On prépare à partir des différents composés par dilution dans l'eau les suspensions diluées correspondant à un volume de pulvérisation de 250 litres de liquide de pulvérisation par hectare.

5 Le potentialisateur est appliqué 24h ou 48 h avant l'éliciteur, dans le cas d'un traitement séquentiel.

La contamination a lieu 2 jours , 4 jours ou 5 jours après le traitement par l'éliciteur. Elle est assurée par balayage des plants par des plants de blé préalablement contaminés la semaine précédente et qui présentent un feutrage conidien pulvérulent (pathogène obligatoire qui ne supporte pas l'eau libre pour s'installer).

10 Après cette contamination, les plants de blé sont placés en incubation pendant 7 jours à 20°C dans une atmosphère de 85% HR

15 2) Mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola*)

Des boutures de vigne (*Vitis vinifera*), variété Chardonnay, sont cultivés dans des godets en serre. Lorsque ces plants sont âgés de 2 mois (stade 4-5 feuilles), ils sont placés en subirrigation durant une semaine avant traitement dans une serre à 20°C afin d'éviter tout effet de stress.

20 Les produits sont appliqués soit en séquence soit en mélange.

On prépare à partir des différents composés par dilution dans l'eau les suspensions diluées correspondant à un volume de pulvérisation de 500 litres de liquide de pulvérisation par hectare.

25 Le potentialisateur est appliqué 6 jours avant l'éliciteur, dans le cas d'un traitement séquentiel.

La contamination a lieu 6 jours après le traitement par l'éliciteur. Elle est assurée par pulvérisation d'une suspension aqueuse de spores de *Plasmopara viticola* obtenue à partir de feuilles sporulées contaminées 7 jours auparavant. Ces spores sont mises en suspension à raison de 100000 unités par cm³.

30 Les plants contaminés sont ensuite mis en incubation pendant 7 jours en atmosphère humide de type brouillard à 18-20°C

La lecture a lieu 7 jours après la contamination, en comparaison avec des plants témoins , non traités mais contaminés. On estime de façon visuelle la surface des feuilles présentant sous leur face inférieure un duvet blanchâtre correspondant à la sporulation du champignon.

35 On calcule à partir du taux de surface foliaire sporulée et au moyen de la formule d'Abbott l'efficacité du produit ou des produits de traitement établie sur trois feuilles par plant et trois plants par facteur d'essai.

40

Résultats : on se reportera aux figures 10 à 20 en fin de descriptions, figures pour lesquelles les commentaires suivants sont donnés :

Figure 10. Influence du conditionnement de plants de blé par le fosétyl Al appliqué à 1kg/ha (Aliette WG 80%) sur le développement de l'oidium après induction par un éliciteur de type carbohydrate Elexa™ à 1% dans la bouillie d'application adjuvantée avec le mouillant R56 à 0,1%.

L'analyse de Colby démontre un effet synergique entre le fosétyl Al et Elexa™ adjuvanté de R56 dans les conditions de l'essai, contre l'oidium du blé (*Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*).

	fosétyl Al (1kg/ha) X Elexa™ 1% + R56 0,1 %
% efficacité observée	72
Colby théorique	50,3
synergie	

Figure 11. Effet synergique entre le fosétyl Al appliqué à 1kg/ha ou H2PHO3 appliqué à 1 ou 2kg/ha et le produit Elexa™ appliqué en tant qu'éliciteur à 0,1% adjuvanté de 0,1% de R56 dans la bouillie d'application vis à vis de l'oidium du blé.

Dans cet essai, la lecture des symptômes a été réalisée sur les premières, deuxièmes et troisièmes feuilles de 24 plants de blé repartis dans trois pots ; 48 heures ont séparé l'application du potentialisateur (fosétyl Al ou H2PHO3) et l'application de l'éliciteur Elexa™ à 0,1% additionné de R56 à 0,1%.

	fosétyl Al (1kg/ha) X Elexa™ 0,1 % + R56 0,1 %	H2PHO3 (1kg/ha) X Elexa™ 0,1 % + R56 0,1 %	H2PHO3 (2kg/ha) X Elexa™ 0,1 % + R56 0,1 %
% efficacité observée	21	32	37
Colby théorique	20,7	20,7	20,7
synergie	+		

Figure 12. Influence potentialisatrice du fosétyl Al à 1 ou 2 kg/ha après élicitation avec Elexa™ à 0,1% adjuvanté avec 0,1% de R56 dans la bouillie d'application contre le mildiou de la vigne.

Dans deux essais indépendants, on note une synergie selon Colby de la combinaison fosétyl Al X Elexa™ 0,1% (+ R56 à 0,1%).

	fosétyl Al (1kg/ha) X Elexa™ 0,1 % + R56 0,1 % (1°essai)	fosétyl Al (2kg/ha) X Elexa™ 0,1 % + R56 0,1 % (2°essai)
% efficacité observée	94	56
Colby théorique	57,4	0
synergie		

BEST AVAILABLE COPY

Figure 13. Influence du fosétyl Al (fos1 à 1kg/ha) sur la protection antioïdium du blé après induction par un éliciteur de type extrait de levure à 1g/l (yeast 1E).

Une synergie selon Colby est mise en évidence pour l'association fosétyl Al - extrait de levure contre l'oidium du blé.

	fosétyl Al (1Kg/ha) X extrait de levure 1g /l (yeast extract Difco™)
% efficacité observée	50
Colby théorique	38,4
synergie	

Figure 14. Influence d'un conditionnement de plants de blé par le fosétyl Al ou l'acide phosphoreux (H₂PHO₃) sur l'oidium du blé après élicitation par un éliciteur de type spores tuées ou non d'un champignon non hôte (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) responsable de l'oidium de l'orge.

	fosétyl Al (1kg/ha) X <i>Erysiphe graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>	H ₂ PHO ₃ (1kg/ha) X <i>Erysiphe graminis</i> f.sp. <i>hordei</i>
% efficacité observée	71	79
Colby théorique	43	40,5
synergie		+

Une synergie selon Colby est démontrée dans les deux cas où le potentialisateur est soit le fosétyl Al soit l'H₂PHO₃ et l'éliciteur des spores d'un champignon non hôte sur le blé.

Figure 15. Influence de H₂PHO₃ (1kg/ha) sur la protection antioïdium de plants de blé après induction par un éliciteur oligosaccharidique comme le tréhalose à 15g/l (Prolabo).

	H ₂ PHO ₃ (1kg/ha) X tréhalose 15g/l (Prolabo)
% efficacité observée	18
Colby théorique	0
synergie	

Un effet synergique selon Colby est observé en associant l'effet potentialisateur de l'acide phosphoreux et éliciteur du tréhalose vis à vis de l'oidium du blé.

BEST AVAILABLE COPY

BEST AVAILABLE COPY

Figure 16. Influence du fosétyl Al (2kg/ha) sur le mildiou de la vigne après induction par un éliciteur oligosaccharidique , le tréhalose à 15g/l (Prolabo).

	fosétyl Al (2kg/ha) X tréhalose 15g/l (Prolabo)
% efficacité observée	11
Colby théorique	0
synergie	

5 Un effet synergique selon Colby est observé en associant l'effet potentialisateur du fosétyl Al et éliciteur du tréhalose vis à vis du mildiou de la vigne.

10 **Figure 17.** Influence du fosétyl Al (1 ou 2 kg/ha) ou de H2PHO3 (1 ou 2 kg/ha) sur l'oidium du blé après induction par l'acide salicylique appliqué à 1g/l 48 heures après le potentialisateur et 4 jours avant la contamination.

	fosétyl Al (1kg/ha) X Ester AS (1g/l)	fosétyl Al (2kg/ha) X Ester AS (1g/l)	H2PHO3 (1kg/ha) X Ester AS (1g/l)	H2PHO3 (2kg/ha) X Ester AS (1g/l)
% efficacité observée	47	53	37	53
Colby théorique	25,2	37,8	25,2	25,2
synergie				

15 Le fosétyl Al ou l'H2PHO3 amplifient de façon synergique, l'effet éliciteur de l'acide salicylique.

20 **Figure 18.** Influence de H2PHO3 (1 kg/ha) ou du fosétyl Al (1 ou 2 kg/ha) sur l'oidium du blé après induction par un éliciteur de type Bion™ (BTH) appliqué à la dose de 30g/ha 48 heures après le potentialisateur et 48 heures ou 4 ou 5 jours avant la contamination.

	1°essai	2° essai						
combinaison	H2PHO3 (1kg/ha) X BTH	fosétyl Al (1kg/ha) X BTH		fosétyl Al (2kg/ha) X BTH		H2PHO3 (1kg/ha) X BTH		H2PHO3 (2kg/ha) X BTH
délai élic/cont	4 jours	48 h	5 jours	48 h	5 jours	48 h	5 jours	48 h
%efficacité observée	63	75	79	79	84	71	84	93
Colby théorique	34	29	53,4	52,4	53,4	36,1	65,7	36,5
synergie								

Une synergie selon Colby est observée pour les différentes combinaisons où le fosétyl Al ou H2PHO3 sont associés au bion™ vis à vis de l'oidium du blé.

5

Figure 19. Influence du fosétyl Al (2 kg/ha) sur le mildiou de la vigne associé à un éliciteur de type bion™ (BTH à 30 g /ha).

	fosétyl Al (2 kg/ha) X bion™ 30 g/ha
% efficacité observée	70
Colby théorique	54
synergie	

10 Un effet synergique selon Colby est observé en associant l'effet potentialisateur du fosétyl Al et éliciteur du bion™ vis à vis du mildiou de la vigne.

15 **Figure 20.** Influence d'Elexa™ (ici potentialisateur) à 0,1 % adjuvanté de R56 à 0,1 % dans la bouillie d'application sur l'oidium du blé, associé à un traitement par un éliciteur de type bion™ (BTH à 30 g /ha) ou ester d'acide salicylique (à 1 g/l).

20 Dans le 1° essai, 4 jours séparent le traitement éliciteur et la contamination alors que dans le 2° essai, le délai entre éliciteur et contamination est soit de 48 heures soit de 5 jours. Dans les deux cas, 48 heures séparent les traitements potentialisateur et éliciteur.

combinaison	Elexa™ 0,1% X BTH	Elexa™ 0,1% X ester AS	Elexa™ 0,1% X BTH	
délai élic/cont	4 j (essai 1)	4 j (essai 1)	48h (essai 2a)	5 j (essai 2b)
% efficacité observée	53	42	64	89
Colby théorique	41,5	24,5	42,5	54,4
synergie	+	+	+	+

25 On observe dans chaque cas un effet synergique selon Colby. Dans tous les cas, l'Elexa™ amplifie la réponse élicitrice du BTH ou de l'acide salicylique.

30 **Conclusions :** Des effets synergiques selon Colby ont été mis en évidence entre le fosétyl-Al et ses dérivés et différentes catégories d'éliciteurs pouvant être des polysaccharides (Elexa™), des sucres simples (tréhalose), des

BEST AVAILABLE COPY

5 composés comme l'acide salicylique et/ou ses esters, du Bion™ (BTH) ou des spores de champignons non hôtes (*Erysiphe graminis hordei*) dans les tests biologiques réalisés sur blé et vigne. De même, des effets synergiques ont été mis en évidence entre Elexa™ et des éliciteurs comme le Bion™ ou l'acide salicylique et/ou ses esters.

10 Ces exemples viennent compléter et corrélérer les effets physiologiques révélés sur cellules de tabac. On a également montré, dans le cas du tabac, une potentialisation par le Bion™ (BTH) lors d'une élicitation par un oligomère de pectine (cf. Figure 21).

REVENDECATIONS

1. Utilisation d'un ou plusieurs dérivé antifongique et/ou antibactérien et/ou antiviral B comme amplificateur (potentialisateur) des réponses physiologiques des plantes obtenues après application d'un ou plusieurs éliciteur A.

2. Utilisation selon 1 caractérisée en ce que le composé éliciteur A est choisi dans la liste comprenant des protéines, des oligosaccharides (de préférence le tréhalose), des polysaccharides (de préférence le produit Elexa™), des lipides, des glycolipides, des glycoprotéines, des peptides, des extraits de parois issus de matériel végétal et/ou de champignons, des champignons, le Bion™ et/ou l'un de ses analogues, des extraits de levure, de l'acide salicylique et/ou l'un ou plusieurs de ses esters.

3. Utilisation selon 1 ou 2 caractérisée en ce que le composé potentialisateur B est choisi dans la liste comprenant les dérivés de l'acide phosphoreux comme les phosphites métalliques tel que le fosétyl-Al, le fosétyl-Na, l'acide phosphoreux et ses sels alcalins ou alcalino-terreux, le Bion™ et/ou l'un de ses analogues, le produit Elexa™, l'acide isonicotinique, l'acide aminobutyrique, le jasmonate de méthyle.

4. Utilisation selon 3 caractérisée en ce que B est l'acide phosphoreux et/ou de l'un de ses dérivés.

5. Utilisation selon 3 caractérisée en ce que B est l'acide phosphoreux ou du fosétyl-Na ou du Bion™.

6. Utilisation selon 5 caractérisée en ce que A est i) un oligosaccharide de type β -glucane isolé de parois de *Phytophthora megasperma* (Pmg), ii) un oligomère de pectine, ou iii) la β -mégaspermine.

7. Utilisation selon 3 caractérisée en ce que B est l'acide phosphoreux ou du fosétyl-Al ou de l'Elexa™.

8. Utilisation selon 7 caractérisée en ce que A est de l'Elexa™, du Bion™, de l'acide salicylique et/ou un ou plusieurs de ses esters, un extrait de levure, du tréhalose, des spores d'un champignon non hôte.
- 5 9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes caractérisée en ce qu'elle peut être éventuellement complétée par un traitement fongicide classique à l'aide d'un fongicide connu, ce traitement pouvant avoir lieu simultanément ou séparément des applications de A et/ou B.
- 10 10. Composition antifongique et/ou antibactérienne et/ou antivirale synergique comprenant comme composé A un ou plusieurs éliciteur d'origine et de nature diverse tel que défini aux revendications 1 à 8, et au moins un composé antifongique B choisi dans le groupe comprenant les dérivés de l'acide phosphoreux, comme les phosphites métalliques tel que le fosétyl-Al ou le fosétyl-Na, l'acide phosphoreux et/ou ses sels alcalins ou alcalino-terreux, et/ou un ou
- 15 plusieurs composés éliciteur doué également de propriété potentialisatrice.
11. Composition selon la revendication 10 dans laquelle B est le fosétyl Al.
- 20 12. Composition selon les revendications 10 et 11 particulièrement adaptée pour les cultures monocotylédones, comme en particulier le blé, le riz, l'orge, et dicotylédones, comme en particulier la vigne ou les solanées.
- 25 13. Composition selon l'une des revendications 10 à 12 pouvant contenir aussi d'autres fongicides connus.
- 30 14. Procédé de lutte à titre curatif ou préventif, de préférence préventif, contre les champignons phytopathogènes des cultures et/ou contre les bactéries et/ou contre les virus caractérisé en ce que l'on applique sur les parties aériennes des végétaux une quantité efficace et non phytotoxique d'une combinaison d'un ou plusieurs composé A et d'au moins un composé B, A et B étant tels que définis aux revendications 1 à 8.
- 35 15. Procédé de lutte à titre curatif ou préventif, de préférence préventif, contre les champignons phytopathogènes des cultures et/ou contre les bactéries et/ou contre

les virus caractérisé en ce que l'on applique sur les parties aériennes des végétaux une quantité efficace et non phytotoxique d'une composition selon l'une des revendications 10 à 13.

5 16. Procédé selon 14 ou 15 caractérisé en ce qu'un traitement supplémentaire à l'aide d'un fongicide connu, ce fongicide étant appliqué simultanément ou séparément des composés A et/ou B, est réalisé.

10 17. Procédé selon l'une des revendications 14 à 16 caractérisé en ce que l'on traite les cultures céréalières (blé, orge, maïs, riz) et légumières (haricot, oignon, cucurbitacées, chou, pomme de terre, tomate, poivron, épinard, pois, laitue, céleri, endives), les cultures fruitières (fraisiers, framboisiers), les cultures arboricoles (pommiers, poiriers, cerisiers, ginseng, citronniers, cocotiers, pécaniers, cacaoyers, noyers, hévéas, oliviers, peupliers, bananiers), la vigne, le tournesol, la
15 betterave, le tabac ou les cultures ornementales.

20 18. Produit comprenant au moins un composé A et au moins un composé B pour le contrôle des champignons phytopathogènes et/ou des bactéries et/ou des virus par application simultanée, séquentielle ou séparée, A et B étant tels que définis aux revendications 1 à 8.

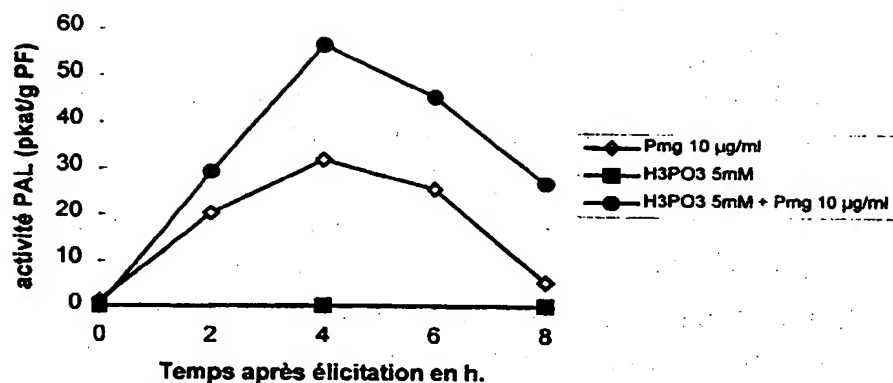


Figure 1. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H3PO3 sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par un éliciteur oligosaccharidique isolé de Pmg.

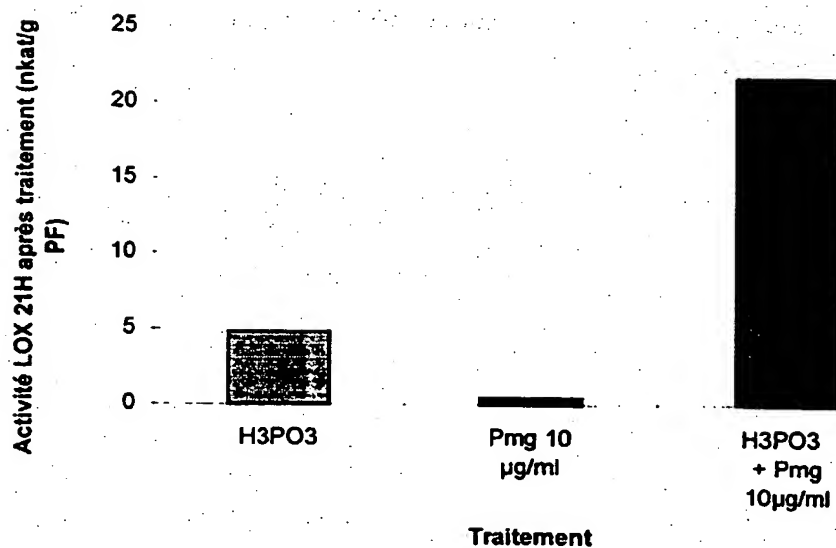


Figure 2. Influence de H3PO3 sur l'activité lipoxigénase (LOX) de cultures cellulaires de tabac après induction par un éliciteur oligosaccharidique isolé de Pmg.

BEST AVAILABLE COPY

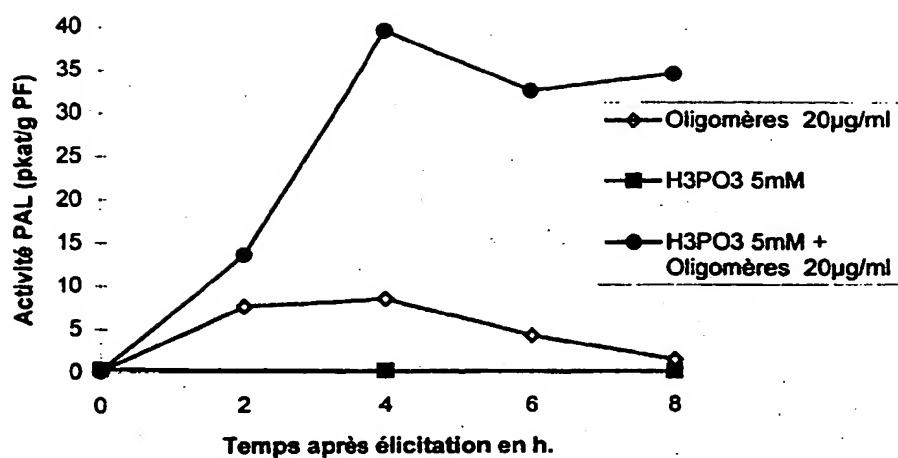


Figure 3. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H3PO3 sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par des oligomères de pectine à 20 µg/ml.

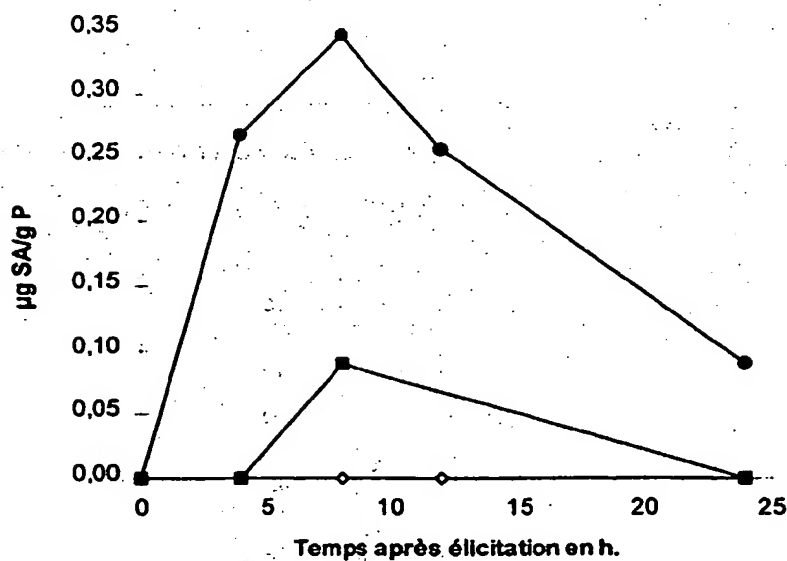


Figure 4 (même légende que pour la figure 3). Accumulation d'AS dans des cultures cellulaires de tabac préconditionnées ou non par H3PO3 et élicitées par des oligomères de pectine.

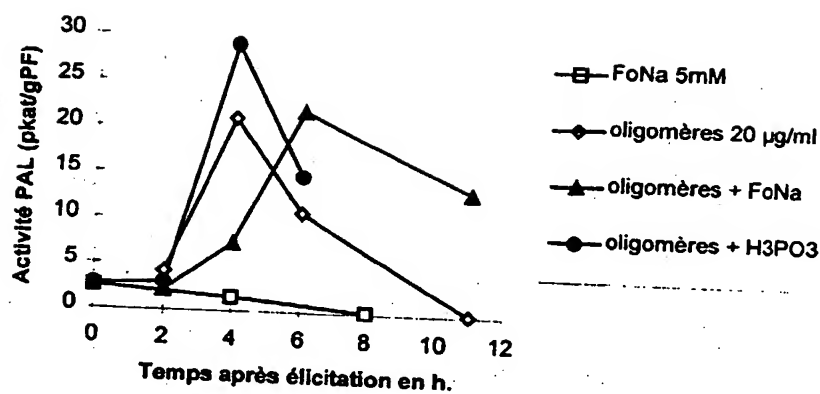


Figure 5. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H3PO3 et le fosétyl-Na sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par des oligomères de pectine.

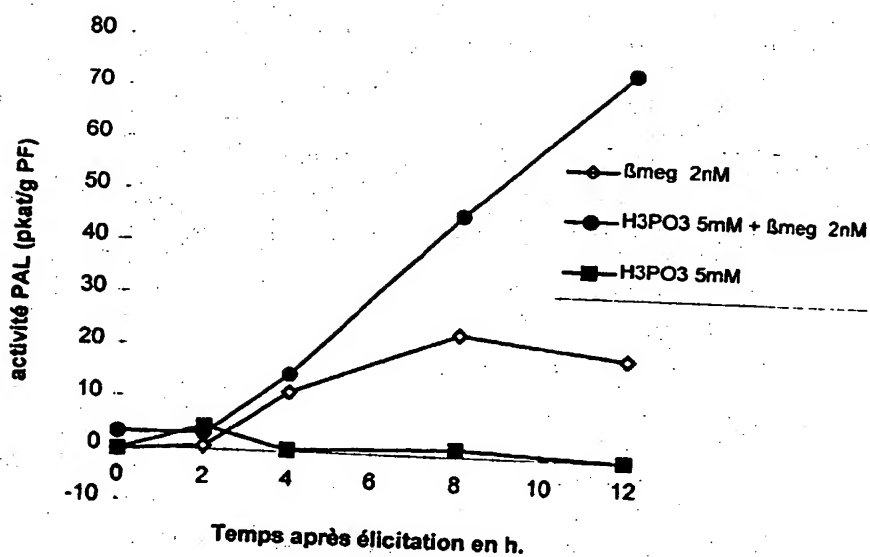


Figure 6. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H3PO3 sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par 2nM de β-mégaspermine.

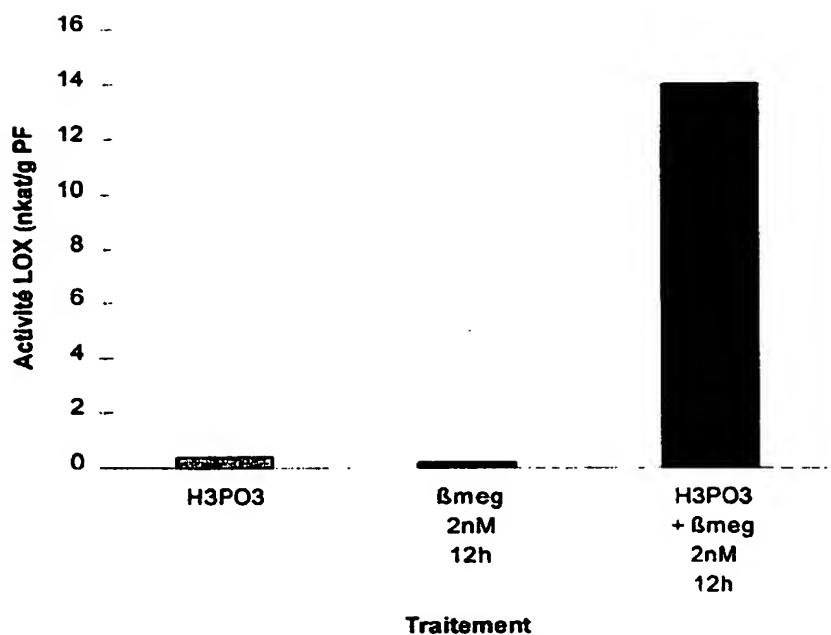


Figure 7. Influence de H₃PO₃ sur l'activité lipoxigénase (LOX) de cultures cellulaires de tabac après induction par 2nM de β-mégaspermine.

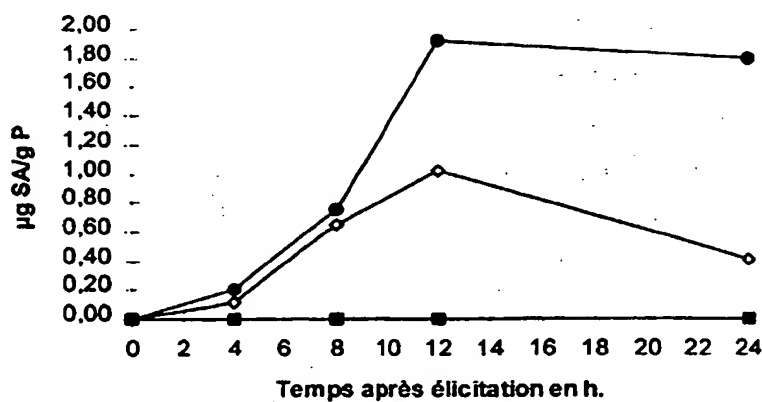


Figure 8. Accumulation d'AS dans des cultures cellulaires de tabac préconditionnées ou non par H₃PO₃ et élicitées par 5nM de β-mégaspermine (même légende que figure 6 mais en remplaçant 2nM par 5nM).

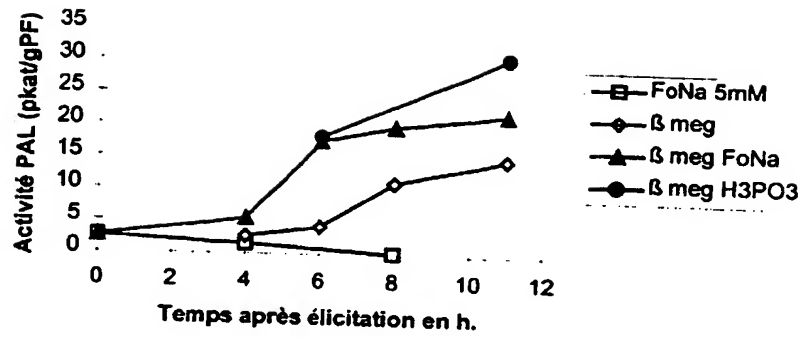


Figure 9. Influence du conditionnement des cultures cellulaires de tabac par H₃PO₃ et le fosétyl-Na sur l'induction de l'activité PAL après élicitation par 2nM de β-mégaspermine.

5

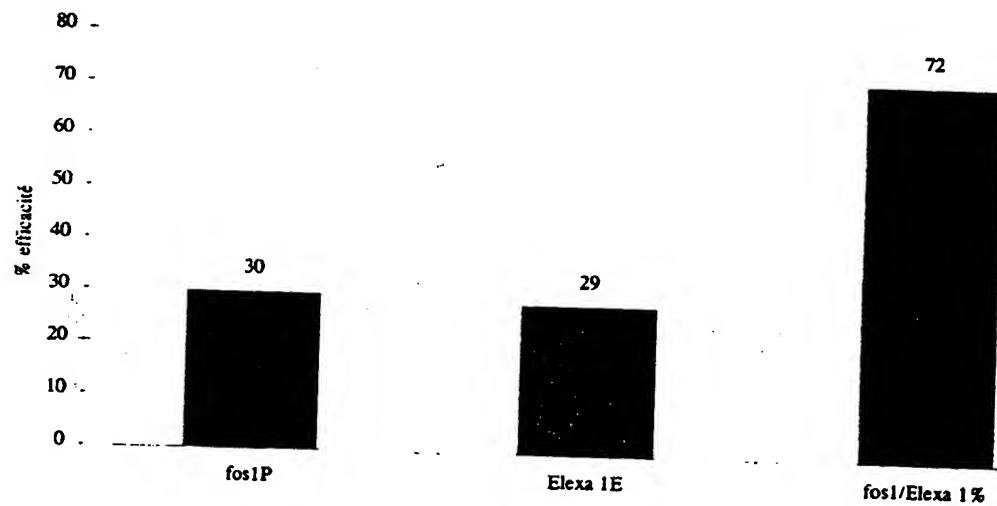


Figure 10. Association fosétyl Al à 1 kg /ha et Elexa™ 1% synergique selon Colby.

10

BEST AVAILABLE COPY

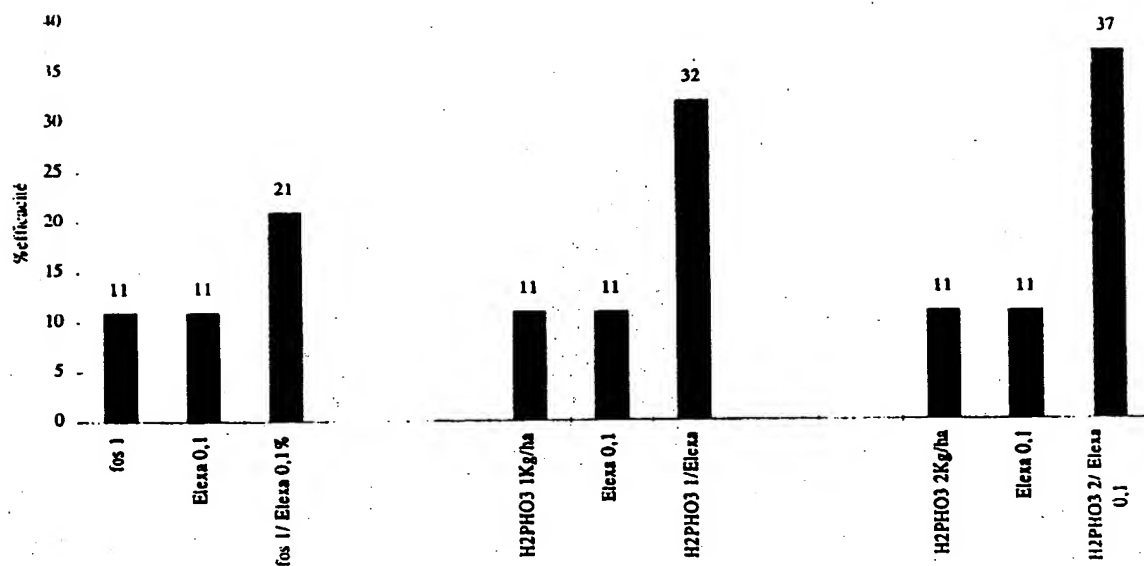


Figure 11. Effet synergique entre le fosétyl Al appliqué à 1 kg/ha ou H2PHO3 appliqué à 1 ou 2 kg/ha et le produit Elexa™ appliqué en tant qu'éléciteur à 0,1 % adjuvanté de 0,1 % de R56 dans la bouillie d'application vis à vis de l'oidium du blé.

5

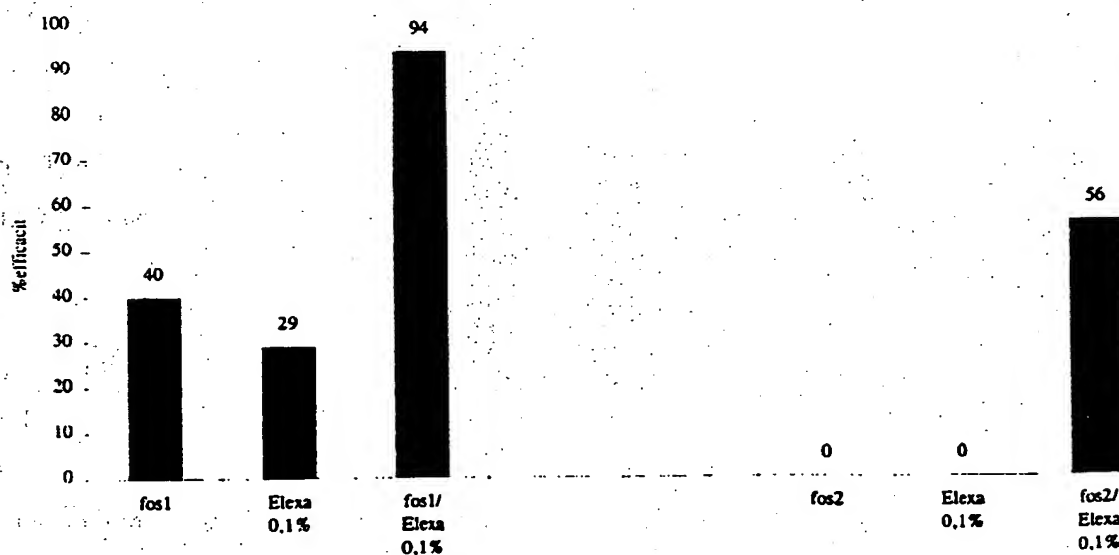


Figure 12. Synergie selon Colby entre le fosétyl Al (fos1 et fos2 appliqué respectivement à 1 ou 2 kg/ha) comme potentialisateur et l'Elexa™ (à 0,1 %) appliqué comme éléciteur contre le mildiou de la vigne.

BEST AVAILABLE COPY

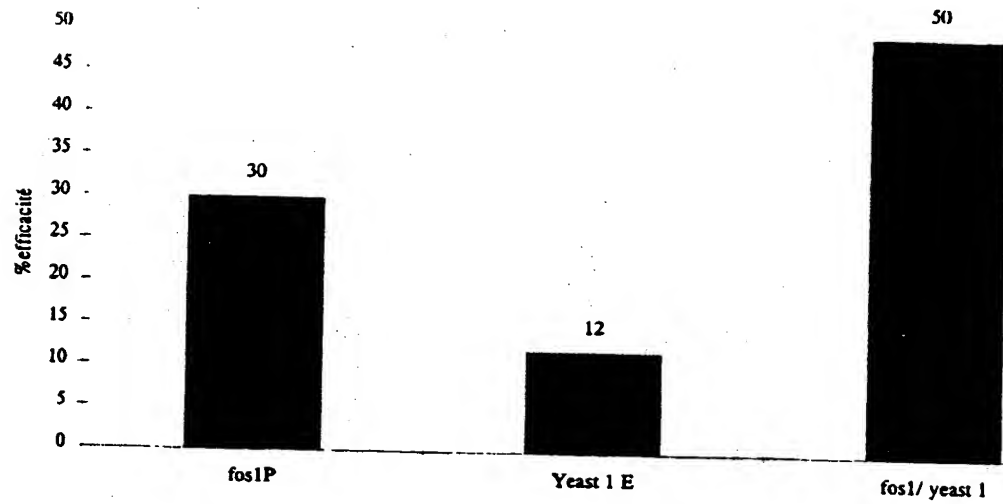


Figure 13. Association fosétyl Al à 1 kg /ha et Extrait de levure synergique selon Colby

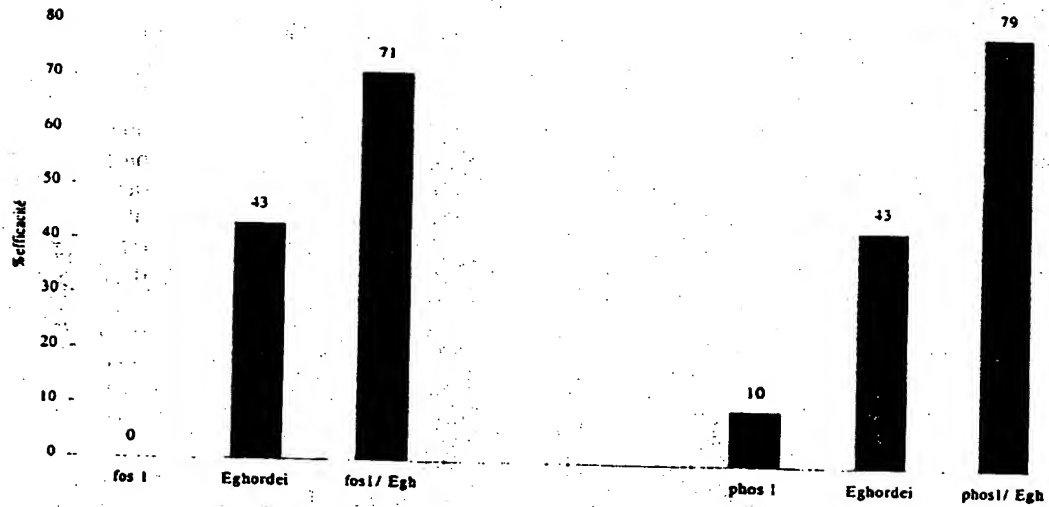


Figure 14. Association synergique selon Colby entre le fosétyl Al à 1 kg /ha (fos1) ou H2PHO3 à 1 kg/ha (phos1) et un traitement éliciteur assuré par des spores d'oidium de l'orge (*Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*).

BEST AVAILABLE COPY

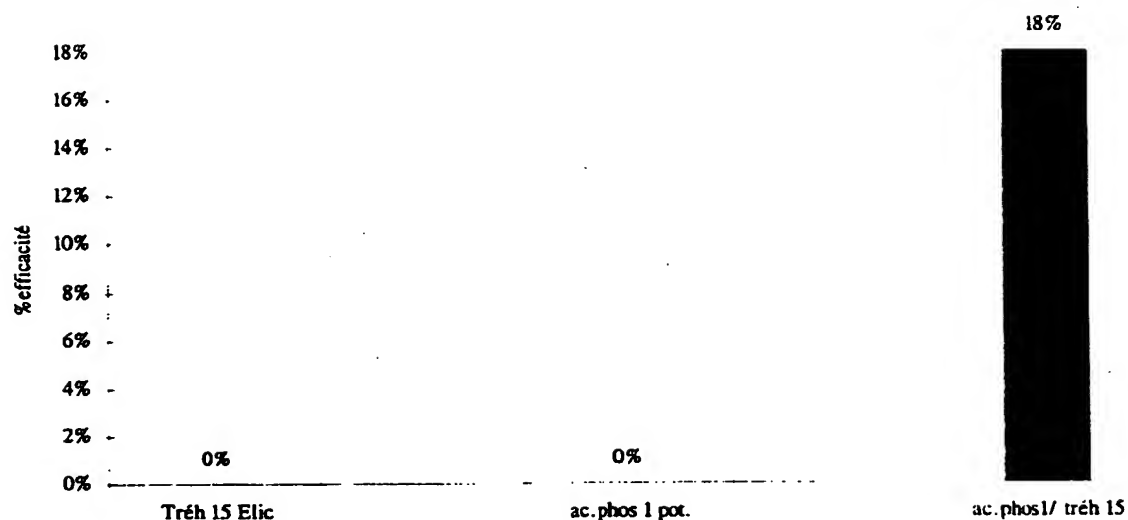


Figure 15. Association synergique selon Colby entre H₂PHO₃ (ac. Phos 1 pot.) à 1 kg /ha en tant que potentialisateur et le tréhalose (15 g/l) en tant qu'éléciteur (Tréh 15 Elic.) contre l'oidium du blé.

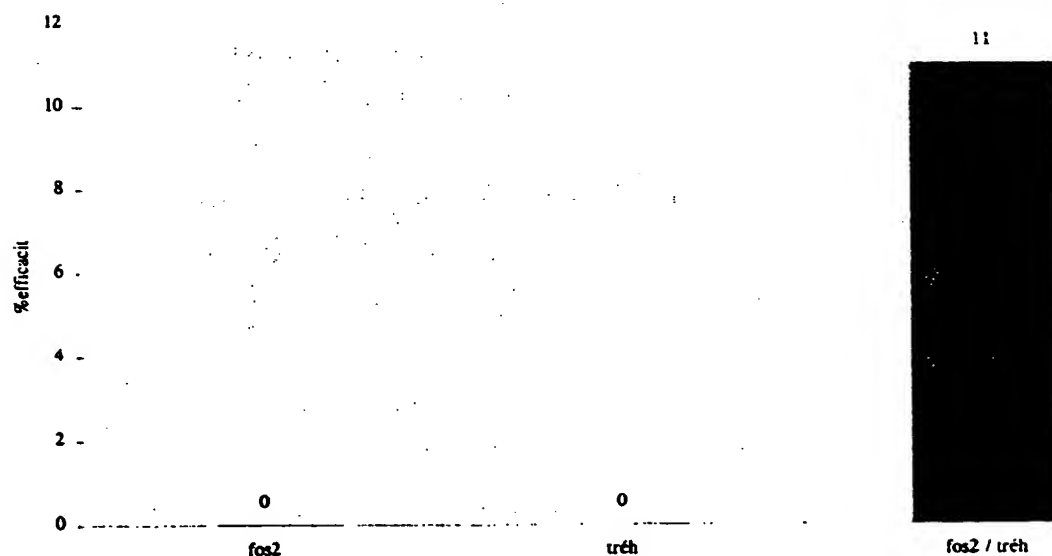


Figure 16. Influence du fosétyl Al (2 kg/ha) sur le mildiou de la vigne après induction par un éléciteur oligosaccharidique, le tréhalose à 15g/l (Prolabo).

BEST AVAILABLE COPY

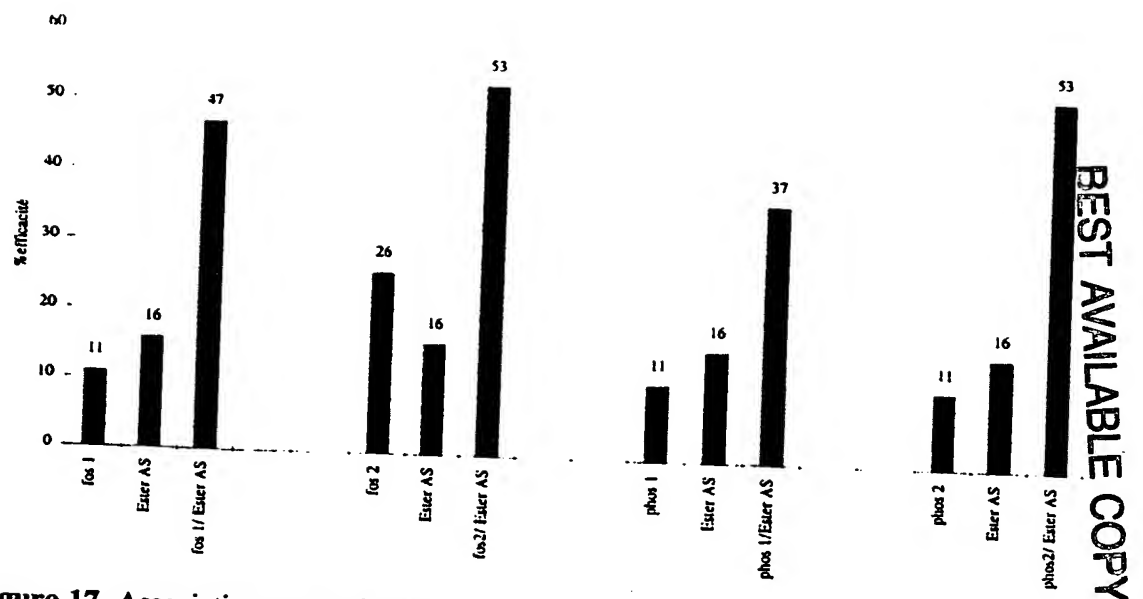


Figure 17. Association synergique selon Colby entre fosétyl Al (fos1 à 1kg/ha et fos2 à 2 kg/ha) ou H2PHO3 (phos1 à 1kg/ha et phos2 à 2 kg/ ha) et acide salicylique (ester AS 1g/l) contre l'oidium du blé.

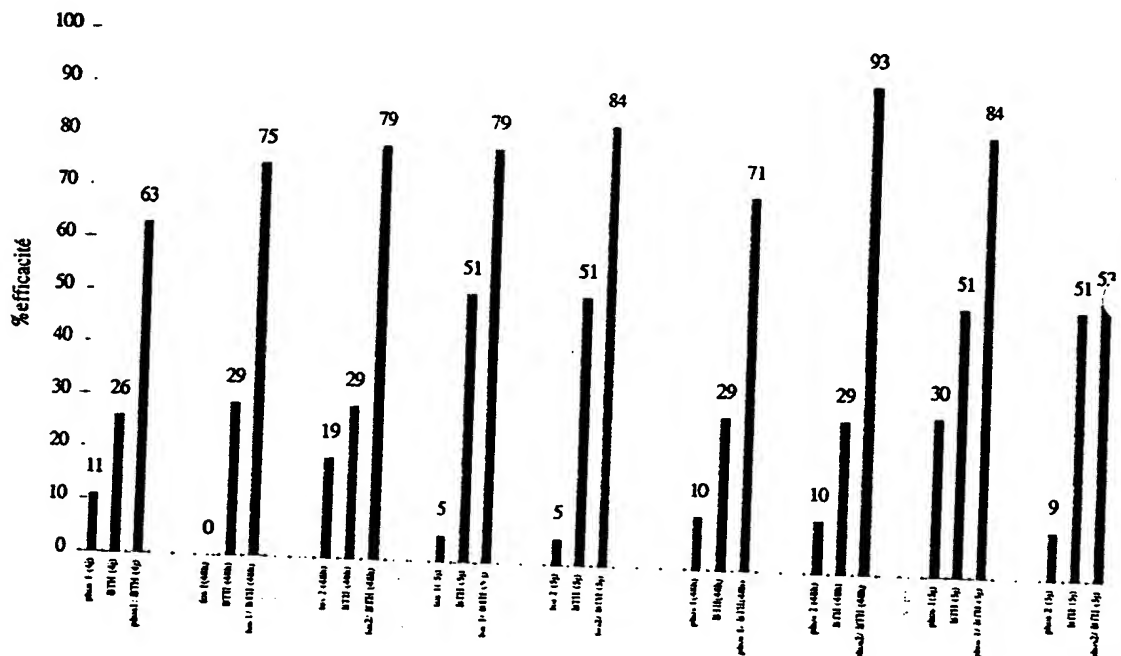


Figure 18. Influence de H2PHO3 à 1 kg/ha (phos1) ou du fosétyl Al (fos1 ou fos2 respectivement à 1 et 2 kg/ ha) sur l'oidium du blé après induction par un éliciteur de type Bion™ (BTH) appliqué à la dose de 30g/ha 48 heures après le potentialisateur et 48 heures ou 4 ou 5 jours avant la contamination.

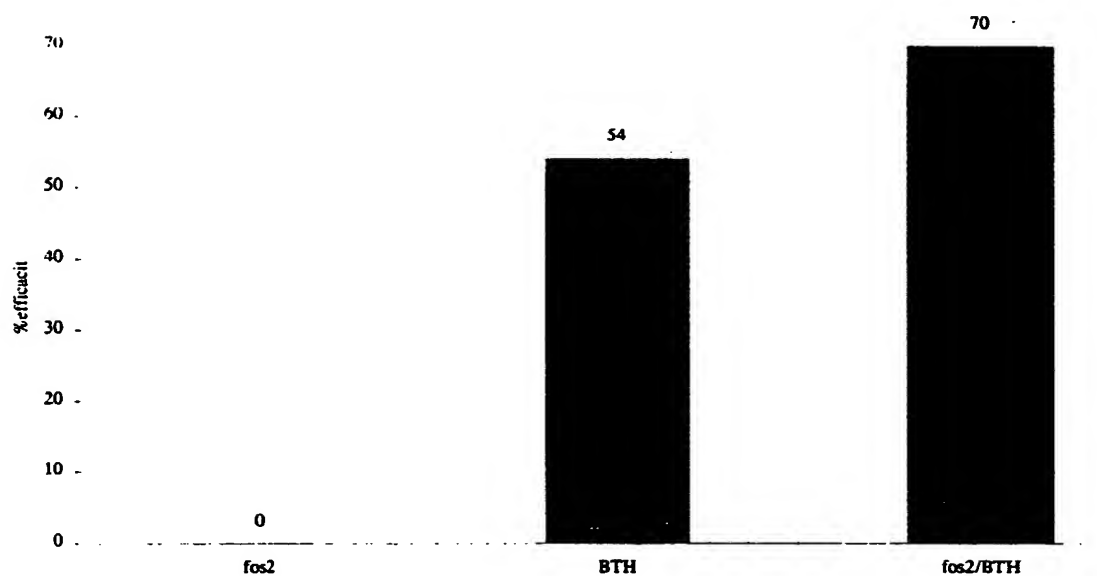


Figure 19. Influence du fosétyl Al (fos2 à 2 kg/ ha) sur mildiou de la vigne associé au bion™ (BTH à 30 g/ha).

5

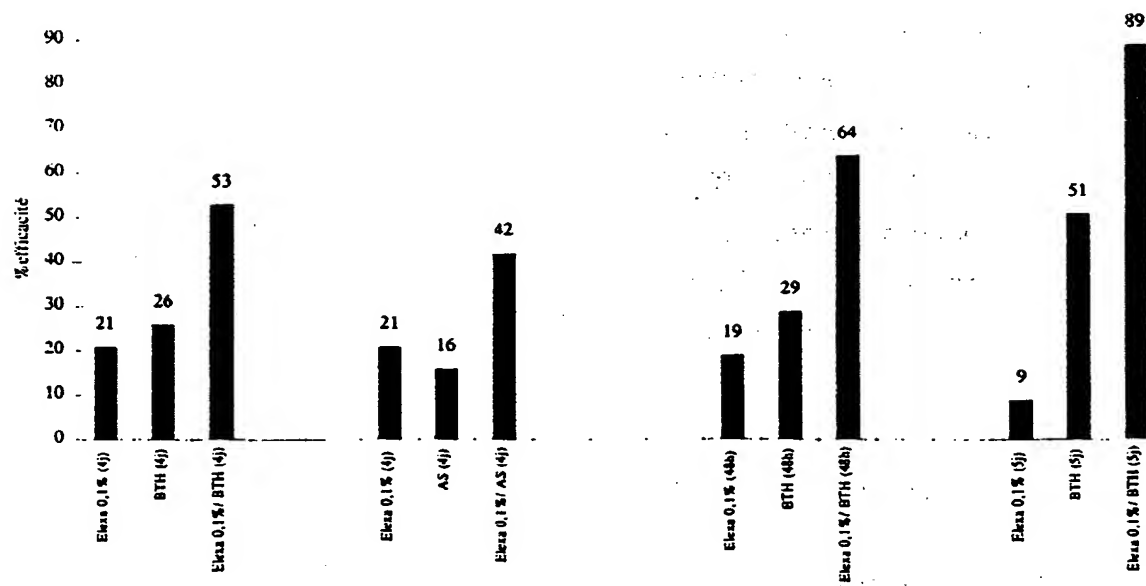


Figure 20. Synergie entre l'effet potentialisateur d'Elexa™ à 0,1% et un éliciteur de type bion™ (BTH à 30g/ha) ou l'acide salicylique (à 1g/l) contre l'oidium du blé.

10

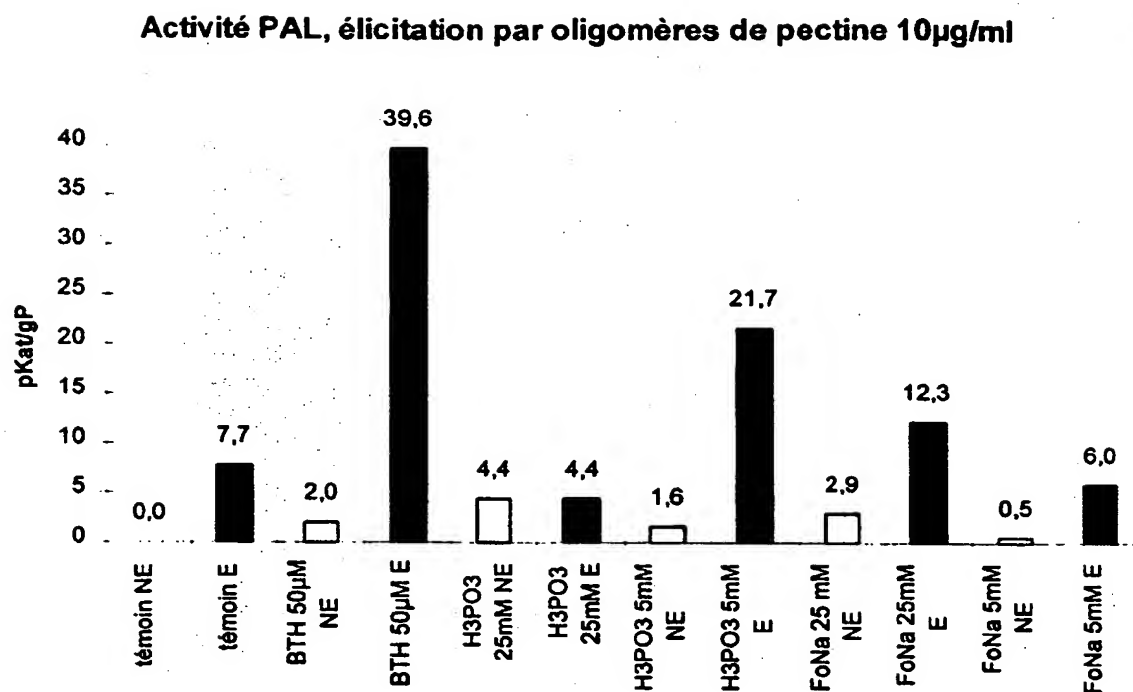


Figure 21. On confirme dans cet exemple l'amplification de l'activité Pal sur des cellules de tabac potentialisées avec H₃PO₃ et le fosétyl de sodium ainsi qu'avec le BTH et élicitées par un oligomère de pectine appliqué à 10µg/ml (E = élicité et NE = non élicité).

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 558943
FR 9805043

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X	BIOLOGICAL ABSTRACTS, vol. 1998, Philadelphia, PA, US; abstract no. 186010, B.KAESTNER ET AL.: "Chitinase in cucumber hypocotyls is induced by germinating fungal spores and by fungal elicitors in synergism with inducers of acquired resistance" XP002089791 * abrégé * & PLANT JOURNAL, vol. 13, no. 4, février 1998, pages 447-454,	1-18
X,Y	DATABASE CROPU STN-International STN-accession no. 98-88654, V.A.KATZ ET AL.: "A benzothiazdiazole primes parsley cells for augmented elicitation of defense responses" XP002089793 * abrégé * & PLANT PHYSIOL., vol. 117, no. 4, 1998, pages 1333-1339,	1-18
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
		A01N
X,Y	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 124, no. 21, 20 mai 1996 Columbus, Ohio, US; abstract no. 284531, T.L.GRAHAM ET AL.: "Signaling in soybean phenylpropanoid responses. Dissection of primary, secondary, and conditioning effects of light, wounding, and elicitor treatments" XP002089792 * abrégé * & PLANT PHYSIOL., vol. 110, no. 4, 1996, pages 1123-1133, -- -/--	1-18
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
12 janvier 1999		Lamers, W
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons -- & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

1
EPO FORM 1693 03.92 (PUC13)

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X,Y	DATABASE CABA STN-International STN-accession no. 96:17167, H.KAUSS ET AL.: "Pretreatment of parsley suspension cultures with salicylic acid enhances spontaneous and elicited production of H2O2" XP002089794 * abrégé * & PLANT PHYSIOLOGY, vol. 108, no. 3, 1995, pages 1171-1178, ---	1-18
X,Y	DATABASE CABA STN-International STN-accession no. 95:27890, H.KAUSS ET AL.: "Pretreatment of parsley (Petroselinum crispum L.) suspension cultures with methyl jasmonate enhances elicitation of activated oxygen species" XP002089795 * abrégé * & PLANT PHYSIOLOGY, vol. 105, no. 1, 1994, pages 89-94, ---	1-18
X,Y	DATABASE CABA STN-International STN-accession no. 95:1588, H.KAUSS ET AL.: "Methyl jasmonate conditions parsley suspension cells for increased elicitation of phenylpropanoid defense responses" XP002089796 * abrégé * & BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 189, no. 1, 1992, pages 304-308, ---	1-18
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
Date d'achèvement de la recherche 12 janvier 1999		Examineur Lamers, W
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES		
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant		

1
EPO FORM 1503 03.92 (P4/C13)

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 558943
FR 9805043

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
X,Y	DD 231 482 A (ADL INST PFLANZENSCHUTZ) 2 janvier 1986 * le document en entier *	1-18
X,Y	WO 97 01277 A (CIBA GEIGY AG ; RUESS WILHELM (CH); KNAUF BEITER GERTRUDE (DE); KUE) 16 janvier 1997 * page 1 - page 3 *	1-18
X,Y	FR 2 751 845 A (RHONE POULENC AGROCHIMIE) 6 février 1998 * page 2, ligne 6 - ligne 17 * * page 2, ligne 20 - ligne 23 * * page 2, ligne 26 - ligne 27 *	1-18
X,Y	WO 97 14310 A (NOVONORDISK AS ; FLEUREN ROBERTUS (DK)) 24 avril 1997 * page 3, ligne 2 - ligne 5 * * page 4, ligne 8 - ligne 16 * * page 5, ligne 34 - ligne 36 * * page 6, ligne 25 *	1-18
X,Y	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 97, no. 10, 31 octobre 1997 & JP 09 143013 A (YAIZU SUISAN), 3 juin 1997 * abrégé *	1-18
X,Y	DE 196 33 502 A (BAYER AG) 26 février 1998 * le document en entier *	1-18
Y	WO 91 06312 A (GENENCOR INT ; ALBERSHEIM PETER (US); BEN YEHOOSHUA SHIMSHON (IL); N) 16 mai 1991 * page 9, ligne 25 - page 10, ligne 16 * -/--	1-18
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
12 janvier 1999		Lamers, W
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

1

EPO FORM 1503 03.92 (P4C13)

INSTITUT NATIONAL
de la
PROPRIETE INDUSTRIELLE

**RAPPORT DE RECHERCHE
PRELIMINAIRE**
établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 558943
FR 9805043

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendications concernées de la demande examinée
Y	GB 2 279 252 A (RHONE POULENC AGROCHIMIE) 4 janvier 1995 * page 1, ligne 15 - ligne 21 * * page 8, ligne 27 - ligne 28 * * page 9, ligne 2 *	1-18
E	WO 98 29537 A (CIBA GEIGY AG) 9 juillet 1998 * revendications 1,25,27,30 *	1-18
E	WO 98 46078 A (COHEN YIGAL ;KORAT MOSHE (IL); ZVI TOV DAN (IL); AGROGENE LTD (IL)) 22 octobre 1998 * revendication 1 *	1-18
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.CL.6)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
12 janvier 1999		Lamers, W
<p>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant</p>		

1
EPO FORM 1503 03.92 (P04C13)